



Polyrotaxanes de cyclodextrines pour l'imagerie bimodale

Jean Fredy

► To cite this version:

Jean Fredy. Polyrotaxanes de cyclodextrines pour l'imagerie bimodale. Chimie. Université Pierre et Marie Curie, 2013. Français. NNT : . tel-01333673

HAL Id: tel-01333673

<https://theses.hal.science/tel-01333673>

Submitted on 18 Jun 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

PRÉSENTÉE A

L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

École doctorale de Chimie Moléculaire Paris Centre – ED 406

Par Jean Wilfried FREDY

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Chimie Moléculaire

POLYROTAXANES DE CYCLODEXTRINES

POUR L'IMAGERIE BIMODALE

Directeur de thèse : Bernold Hasenknopf

Co-encadrant : Guillaume Vives

Soutenue le : 30 octobre 2013

Devant la commission d'examen formée de :

M. Eric	MONFLIER	Professeur - Université d'Artois	Rapporteur
M. Benoît	COLASSON	Maître de conférences - Université Paris V	Rapporteur
M. Laurent	BOUTEILLER	Directeur de recherche - UPMC	Examineur
M. Michel	ETIENNE	Professeur - Université Paul Sabatier	Examineur
Mme. Célia	BONNET	Chargée de recherche - CBM, Orléans	Examineur
Mme. Valérie	MARVAUD	Directrice de recherche - UPMC	Examineur
M. Bernold	HASENKNOPF	Professeur - UPMC	Invité
M. Guillaume	VIVES	Maître de conférences - UPMC	Invité

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
 I. IMAGERIE MEDICALE.....	4
1. Les techniques d'imagerie.....	5
a. L'imagerie par résonance magnétique.....	5
b. Imagerie optique de fluorescence.....	14
2. Imagerie bimodale.....	17
II. ROTAXANES ET POLYROTAXANES	22
1. Les rotaxanes.....	22
a. Généralités sur les rotaxanes	22
b. Les rotaxanes de cyclodextrine	26
2. Polyrotaxanes	29
a. Polyrotaxanes de cyclodextrines natives	30
b. Polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées	32
III. POLYROTAXANES POUR L'IMAGERIE BIMODALE.....	36
 CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE DES CYCLODEXTRINES FONCTIONNALISÉES	39
 I. SYNTHÈSE DE LA CYCLODEXTRINE AZOTURE	41
1. La « chimie click ».....	41
a. Concept.....	41
b. Réaction de Huisgen et la réaction catalysée au Cuivre (CuAAC).....	42
2. Mono- et di- fonctionnalisation des cyclodextrines	44
a. Mono-fonctionnalisation	44
b. Di-fonctionnalisation.....	45
c. Fonctionnalisation des CDs par protection-déprotection sélective	46
3. Synthèse de la CDN_3 et de la $CD(N_3)_2$	47
II. SYNTHÈSE DE CDS FONCTIONNALISÉES PAR UN COMPLEXE POUR L'IRM	48
1. Généralités.....	48
2. Synthèse de l'agent de contraste	50

3. Relaxivité des agents de contraste.....	52
III. SYNTHÈSE DE CDS FONCTIONNALISÉES PAR DES SONDÉS FLUORESCENTES	53
1. CD BODIPY	53
a. Généralités	53
b. Synthèse.....	56
c. Propriétés optiques	61
2. CD cyanine.....	63
a. Généralités	63
b. Synthèse.....	65
c. Propriétés optiques	67
3. CD Europium	68
a. Généralités sur les lanthanides	68
b. Synthèse.....	70
IV. CONCLUSION.....	72

CHAPITRE 2 : CHOIX DE L'AXE ET SYNTHÈSE DE ROTAXANES 73

I. PSEUDO-ROTAXANES DE CYCLODEXTRINES.....	75
1. Généralités.....	75
2. Etudes thermodynamiques	76
a. Mesure des coefficients de diffusion	77
b. Choix de l'axe	77
3. Etudes cinétiques.....	82
II. SYNTHÈSE DES ROTAXANES	86
1. Rotaxanes de cyclodextrines	86
2. Synthèses de rotaxanes modèles	89
a. Choix du bouchon.....	89
b. Synthèse des rotaxanes fonctionnalisés.....	91
c. Mesures de relaxivités avec les [3]rotaxanes de Gadolinium.....	94
III. SYNTHÈSE D'OLIGOROTAXANES	95
IV. CONCLUSION	100

CHAPITRE 3 : POLYROTAXANES BIMODAUX 101

I. POLYROTAXANES AVEC UN AXE PEG 103

1. Généralités..... 103
2. Synthèse de polyrotaxanes à base de PEG 104
 - a. Avec l' α -CD native..... 104
 - b. Avec les CDs fonctionnalisées 108

II. POLYROTAXANES AVEC UN AXE POLYAMMONIUM..... 109

1. Généralités..... 109
2. Axe polyamine protoné 110
3. Axe polyammonium perméthylé..... 112
 - a. Etude avec de la cyclodextrine native 112
 - b. Polyrotaxanes fonctionnalisés 115
4. Propriétés..... 124
 - a. Fluorescence 124
 - b. Mesures de relaxivités 125

III. CONCLUSION..... 127

CONCLUSION GENERALE 129

EXPERIMENTAL PART 133

ABREVIATIONS..... 191

BIBLIOGRAPHIE 193

Introduction

L'imagerie médicale, qui a débuté à la fin du XIX^{ème} siècle par le développement de la radiographie, a pour but de fournir des images du corps humain. Le développement de différentes techniques comme l'imagerie par résonance magnétique permet d'avoir accès à des informations de plus en plus précises notamment sur les métabolismes physiologiques de l'organisme. La nécessité de comprendre les mécanismes (à l'échelle moléculaire notamment) qui sont impliqués dans les maladies telles que le cancer et les diagnostics précoces, explique que la recherche dans l'imagerie médicale est encore un domaine en pleine expansion. Chaque technique présente individuellement des avantages et limitations en termes de sensibilité, résolution ou toxicité. Ainsi la recherche sur la combinaison de plusieurs types d'imagerie est l'un des défis principaux de ce domaine.

Cette thèse a pour objectif le développement d'un nouvel agent d'imagerie bimodal qui permettra de combiner deux techniques d'imagerie complémentaires. Pour cela la synthèse d'un nouvel objet, utilisant les concepts de la chimie supramoléculaire, sera développée. La chimie supramoléculaire est devenue depuis ces dernières décennies, avec le prix Nobel de Jean-Marie Lehn en 1987, un outil de plus en plus important et puissant pour l'élaboration de nouveaux objets dans plusieurs domaines comme les matériaux et les composants électroniques. L'élaboration d'architectures supramoléculaires relève aussi du défi synthétique.

Dans cette introduction bibliographique, nous présenterons dans un premier temps les différentes techniques d'imagerie qui existent et nous détaillerons en particulier l'IRM et l'imagerie optique de fluorescence. Ensuite nous définirons l'imagerie bimodale en décrivant notamment les principales stratégies qui sont actuellement explorées pour l'élaboration de nouveaux agents bimodaux.

Cette thèse s'articule autour de la synthèse de polyrotaxanes à base de cyclodextrines pour l'imagerie bimodale. Nous rappellerons donc ce que sont les polyrotaxanes et les rotaxanes en détaillant de façon plus approfondie ceux à base de cyclodextrines. Enfin le projet et la stratégie que nous avons adoptée, sera présentée.

I. Imagerie médicale

De nos jours l'utilisation des techniques d'imagerie pour le diagnostic des maladies comme le cancer et la compréhension des processus biologiques est très importante.^[1, 2] L'apport des nouvelles technologies, notamment l'amélioration des capacités informatiques, a permis aux différentes techniques d'évoluer rapidement permettant l'accès aux informations au niveau cellulaire voire moléculaire.

De nombreuses techniques d'imagerie ont ainsi vu le jour ces dernières décennies. Elles peuvent être classées soit selon l'énergie utilisée pour produire une image (les rayons X, l'infrarouge, etc.) (Figure 1) soit selon leur résolution spatiale : l'imagerie structurale donne des informations sur l'anatomie et l'imagerie fonctionnelle s'intéresse plus au fonctionnement des organes et au déroulement de processus biologiques.

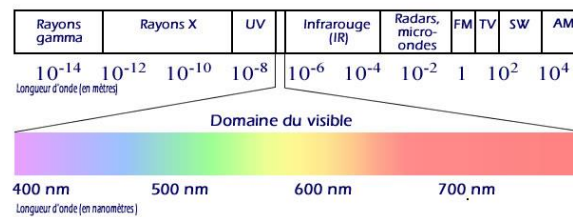


Figure 1 : Spectre électromagnétique de la lumière

Les systèmes d'imagerie structurale qui donnent des informations anatomiques sont maintenant couramment utilisés dans le diagnostic. Ces systèmes comprennent :

- la tomodensitométrie (CT pour « computed tomography » en anglais) qui utilise l'absorption des rayons X par les tissus.
- l'imagerie par résonance magnétique (IRM) qui enregistre la résonance nucléaire des protons de l'eau dans l'organisme sous un champ magnétique.
- l'échographie qui utilise la réflexion des ultrasons par les tissus.

Pour obtenir des clichés d'imagerie fonctionnelle, différentes méthodes existent :

- la tomographie par émission de positrons (PET) qui enregistre les émissions issues de la désintégration d'un produit radioactif qui a été au préalable injecté dans l'organisme.
- la tomographie d'émission photonique (SPECT).

- les méthodes de fluorescence.

Dans cette thèse nous nous intéressons plus particulièrement à l'IRM et l'imagerie optique de fluorescence.

1. Les techniques d'imagerie

a. L'imagerie par résonance magnétique

L'imagerie par résonance magnétique nucléaire est l'une des méthodes d'imagerie les plus importantes de nos jours pour le diagnostic et la recherche médicale. Plus de 60 millions de diagnostics sont enregistrés par an. En effet, l'IRM présente plusieurs avantages : une très haute résolution spatiale et temporelle, une pénétration tissulaire importante, et elle n'utilise pas de rayons ionisants et est non invasive. De ce fait cette technique d'imagerie et le développement des concepts de la résonance magnétique nucléaire ont fait l'objet de plusieurs prix Nobel : Block et Purcell en 1952 ("for their development of new methods for nuclear magnetic precision measurements and discoveries in connection therewith"), Ernst en 1991 ("for his contributions to the development of the methodology of high resolution nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy"), Wüthrich en 2002 ("for his development of nuclear magnetic resonance spectroscopy for determining the three-dimensional structure of biological macromolecules in solution"), et Laubertur et Mansfield en 2003 ("for their discoveries concerning magnetic resonance imaging").

L'IRM consiste en la détection des spins nucléaires des protons de l'eau qui représentent 63 % des atomes d'hydrogène présent dans le corps humain. Le contraste en IRM dépend de plusieurs paramètres comme la densité de spins (les tissus riches en eau ont un signal intense), des temps de relaxation des protons, du champ magnétique et de la séquence impulsionnelle. Deux types de relaxation existent :

- la vitesse de relaxation longitudinale ou spin-réseau ($R_1 = 1/T_1$). Les signaux détectés seront d'autant plus intenses que le R_1 est grand (T_1 petit).
- la vitesse de relaxation transversale ou spin-spin ($R_2 = 1/T_2$). Les signaux détectés seront d'autant plus intenses que le R_2 est faible (T_2 grand).

Une acquisition IRM peut se faire sans adjonction d'agent de contraste (AC). Néanmoins, l'utilisation d'un AC permet d'améliorer de façon très significative et de compenser le manque de sensibilité de la méthode.

Les agents de contraste

Le principal inconvénient de l'IRM est donc sa faible sensibilité. C'est pourquoi entre 30 et 40 % des acquisitions nécessitent l'utilisation d'un agent de contraste.^[3]

Le rôle d'un agent de contraste est de modifier la vitesse de relaxation des protons. Si R_1 augmente (contraste positif), les signaux détectés sont plus intenses en revanche si R_2 augmente, l'intensité des signaux détectés diminue (contraste négatif). Les ACs peuvent être classés en fonction de leur biodistribution dans l'organisme ou des propriétés magnétiques (influence sur le T_1 ou le T_2).

L'influence sur le temps de relaxation dépend de la nature chimique de l'AC utilisé. Les ACs peuvent être classés selon leurs propriétés magnétiques :

- les ACs superparamagnétiques
- les ACs paramagnétiques

Les agents superparamagnétiques ont une influence sur le temps de relaxation transversale T_2 . Les composés qui sont sur le marché sont composés d'oxyde fer (Fe_3O_4 et Fe_3O_4) et sont surtout employés pour la détection des cancers du foie et de la rate. Ces composés sont des particules d'oxyde de fer qui sont encapsulées dans une coque protectrice (dextrane ou siloxane par exemple). Il existe plusieurs types de ces agents superparamagnétiques qui dépendent de la taille des particules :

- les USPIO (« ultrasmall superparamagnetic iron oxide ») pour un diamètre inférieur à 50 nm.
- les SPIO (« small superparamagnetic iron oxide ») pour un diamètre compris entre 50 nm et 1 μm
- les MPIO (« micron-sized iron oxide »)

Les ACs utilisant le Gd(III) sont des agents paramagnétiques. Le Gd(III) avec 7 électrons célibataires (spin 7/2) possède le moment magnétique électronique le plus important. La relaxation se fait en général à travers l'espace avec une interaction de type dipôle-dipôle entre le complexe paramagnétique et les protons de l'eau. Les ACs paramagnétiques modifient le T_1 . De nombreux complexes de Gd(III) ont été mis sur le marché (Figure 2). Les complexes de Mn(II) ayant un spin de 5/2 peuvent également être utilisés comme agent de contraste paramagnétique. Dans la suite du manuscrit nous nous intéresserons uniquement aux ACs paramagnétiques, notamment les complexes de Gd(III). La plupart des agents de contraste utilisés sont des complexes de gadolinium(III) qui représentent 95% de la totalité des ACs injectés par an.

La relaxation longitudinale ou transversale (R_i) est donnée par la relation (Équation 1) :

$$R_i = r_{ip}[AC] + R_{id} \quad (i = 1, 2) \quad \text{Équation 1}$$

Où r_{ip} est la relaxivité de l'AC en $\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$, $[AC]$ est la concentration en AC en mmol.L^{-1} , R_{id} la relaxation en l'absence d'agent de contraste (composante diamagnétique).

Les agents de contraste peuvent être classés aussi en fonction de leur biodistribution :

- les ACs non spécifiques
- les ACs spécifiques (ou ciblés)
- les ACs bioactivables

Les agents de contraste non spécifiques n'interagissent pas avec un type particulier de cellules (ou tissus). Ces ACs vont se répartir dans l'organisme en fonction de leur taille principalement. Les petites molécules vont rester dans les fluides extracellulaires et les plus grosses vont rester dans les espaces extravasculaires.

Les ACs spécifiques vont eux interagir avec certains types de cellules. Ce groupe comprend les ACs qui vont aller passivement vers un organe spécifique et ceux qui sont créés de manière à aller vers un type spécifique de cellules.

Les ACs activables subissent un changement de conformation (donc de réponse) en fonction des paramètres physiologiques (par exemple le pH).

Le Gd(III) libre présente une très grande toxicité et ne peut donc pas être injecté directement dans le sang. En effet, il peut se substituer à certains cations comme le Ca^{2+} et donc interférer avec le système de régulation du calcium. Ceci peut entraîner le blocage des canaux du calcium et empêcher ainsi les transmissions neuromusculaires. Le Gd(III) doit donc être complexé par des ligands multidentates (Figure 2). Les complexes doivent être très stables thermodynamiquement et cinétiquement inertes pour éviter la libération de gadolinium dans l'organisme.^[4] Par exemple le Gd(DTPA)^{2-} et le Gd(DOTA)^- sont très stables avec respectivement un $\log(K)$ de 22.4 et 25.3 (où K est la constante de complexation).

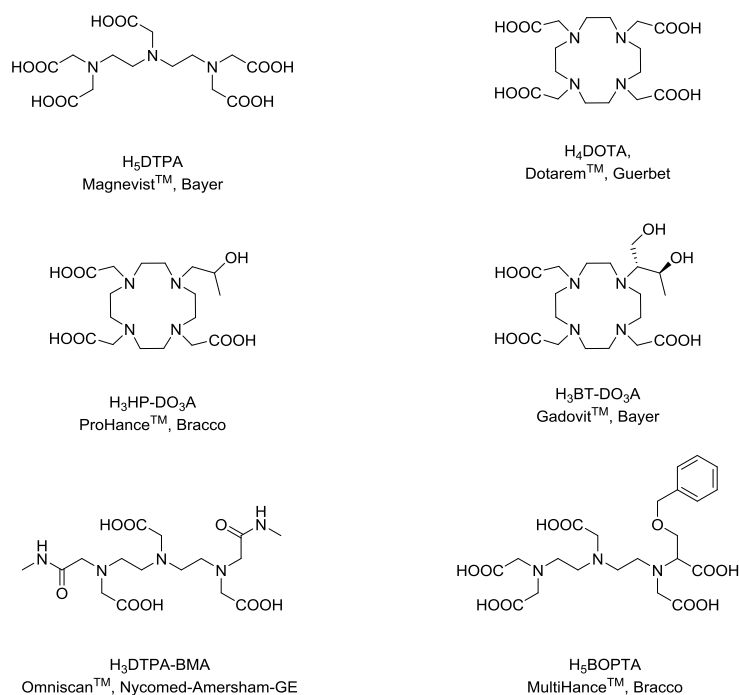


Figure 2 : Exemples de ligand pour Gd(III) commerciaux

Les mécanismes de relaxation

La relaxation des protons de l'eau est due principalement à l'interaction entre le spin nucléaire des protons et le spin électronique du Gd(III). Il s'agit d'une interaction de type dipôle-dipôle qui diminue rapidement avec la distance ($1/r^6$). Plus les molécules d'eau seront proches du centre métallique plus l'interaction sera importante. La coordination de l'eau sur le Gd(III) est donc très importante. Les molécules d'eau vont subir deux types de mécanismes :

- le mécanisme de sphère interne (« inner sphere » en anglais) où les molécules d'eau qui sont dans la première sphère de coordination du métal s'échangent et transmettent l'influence du paramagnétisme.
- le mécanisme de sphère externe (« outer sphere » en anglais) qui concerne les molécules d'eau qui diffusent au voisinage du complexe.

L'augmentation paramagnétique de la relaxation représente donc la somme de deux termes relatifs à ces deux types de mécanisme (Équation 2):

$$r_{ip} = r_{ip}^{is} + r_{ip}^{os} \quad (i = 1, 2) \quad \text{Équation 2}$$

La relaxation de la sphère interne dépend du nombre de molécules d'eau coordonnées au métal et de l'échange avec celles qui entourent le métal. Les relations de Solomon-Bloembergen-Morgan décrivent ce phénomène (Équation 3 et Équation 4):

$$r_{1p}^{is} = \frac{q \cdot P_m}{(T_{1m} + \tau_m)} \quad \text{Équation 3}$$

Avec q le nombre de molécules d'eau liée au métal, T_{1m} le temps de relaxation longitudinale du proton qui serait observé si la molécule d'eau était coordonnée de façon permanente au Gd(III), τ_m le temps de vie de la molécule d'eau coordonnée.

Le temps de relaxation T_{1m} dépend de r_{GdH} (la distance entre le proton et le Gd), T_{ie} (le temps de relaxation électronique du Gd(III)), τ_R (le temps de corrélation rotationnel). Le T_{1m} est donné par la relation suivante :

$$T_{1m} = \frac{2\gamma^2 g_e^2 \mu_B^2 S(S+1)}{15 r_{GdH}^6} \left[\frac{7\tau_{c2}}{1 + \omega_S^2 \tau_{c2}^2} + \frac{3\tau_{c1}}{1 + \omega_H^2 \tau_{c1}^2} \right] \quad \text{Équation 4}$$

Avec :

$$\frac{1}{\tau_{ci}} = \frac{1}{\tau_m} + \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{T_{ie}}$$

Où ω_H est la fréquence de Larmor du proton, ω_S la fréquence de Larmor de l'électron, et τ_{ci} les temps de corrélation.

La Figure 3 résume les principaux paramètres qui influencent le mécanisme de sphère interne.

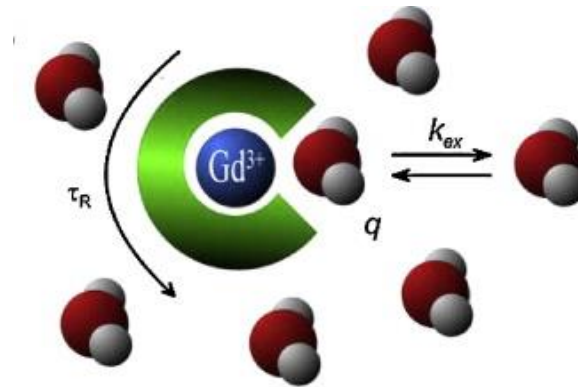


Figure 3 : Les principaux paramètres influençant le mécanisme de sphère interne

Le mécanisme de sphère externe est issu d'un couplage dipolaire entre les électrons du métal et le spin du noyau des molécules d'eau situées à proximité des complexes. Cette relaxation dépend de la distance entre le Gd et le proton mais aussi de la somme des coefficients de diffusion du complexe de Gd et des molécules d'eau.

Paramètres influençant la relaxivité

Plusieurs paramètres interviennent dans la relaxation des protons des molécules d'eau qui sont plus ou moins facilement modulables :

- Le nombre de molécules d'eau q semble être le premier paramètre à changer car il est directement proportionnel à la relaxivité.
- La distance r_{GdH} doit être diminuée pour pouvoir observer une augmentation de la relaxivité car celle-ci est proportionnelle à $1/(r_{GdH})^6$.
- Le temps de corrélation rotationnel τ_R . Pour augmenter ce temps les complexes de gadolinium sont en général greffés sur des macromolécules comme des peptides ou des dendrimères.
- Le temps de vie de la molécule d'eau lié au complexe τ_m
- Les temps de relaxation électronique T_{ie}

Le nombre de molécules d'eau liées au Gd

La relaxivité étant proportionnelle au nombre de molécules d'eau q , la modification de ce paramètre semble être une évidence.^[5] Malheureusement augmenter le nombre q signifie diminuer la stabilité thermodynamique de la chélation du Gd(III) et augmente la labilité du Gd(III). Or les complexes de Gd doivent être très stables en raison de la toxicité du Gd(III) libre. Le deuxième désavantage est que le Gd(III) pourra être coordonné à d'autres ligands comme des phosphates ou des bicarbonates ce qui diminuera la relaxivité.

Sur la Figure 4^[6], le composé qui possède deux gadolinium permet à chaque complexe de Gd de lier deux molécules d'eau. Une augmentation de la relaxivité est effectivement observée ($r_1 = 12,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 20 MHz à 37°C) par rapport au complexe commercial ($r_1 = 1.19 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) mais une baisse notable de la constante de stabilité est constatée ($pGd = 16,2$ pour le di-Gd et 23,5 pour le composé commercial)ⁱ.

ⁱ $pGd = -\log[Gd]_{\text{libre}} ; [Gd]_{\text{total}} = 1 \text{ } \mu\text{M}$, $[\text{ligand}] = 10 \text{ } \mu\text{M}$ ($pH = 7,4$ et $0,1 \text{ M KCl}$)

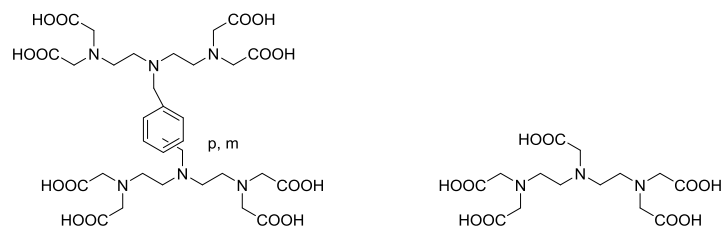


Figure 4 : Ligand permettant au Gd(III) de lier deux molécules d'eau par complexe (à gauche) et le ligand commercial (à droite)

K. N. Raymond *et al.* ont développé dans les années 1990 des ligands tripodaux d'hydroxypyridinone (HOPO) (Figure 5) qui permettent la chélation de deux molécules d'eau. Dans ces complexes le Gd s'avère être bien coordonné ($pGd = 19,2$) au ligand et affiche une relaxivité plus importante que les composés commerciaux ($r_1 = 10,5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). Un travail important (comme par exemple la longueur de la chaîne liant les différents cycles aromatiques, la modification de la nature du cycle aromatique) a été réalisé pour l'amélioration des paramètres thermodynamiques de ces complexes et obtenir une meilleure relaxivité.

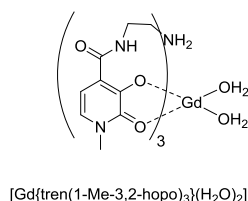


Figure 5 : Complexe de Gd avec comme ligand un dérivé HOPO

La vitesse d'échange entre la molécule d'eau et le Gadolinium

Pour augmenter cette vitesse d'échange, il faut augmenter l'encombrement stérique autour du Gd. En effet, cela permet d'accentuer la vitesse de dissociation de la molécule d'eau qui est liée au Gd. Par exemple sur la Figure 6, le fait de substituer un carboxylate du DOTA par une autre fonction entraîne un changement du τ_M .

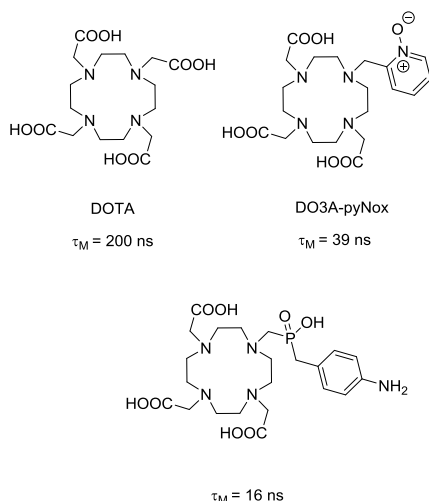


Figure 6 : Ligands type DOTA préparés pour diminuer le τ_M

Pour le DOTA, ce temps de vie pour l'eau coordonnée au métal est de 200 ns. Si un carboxylate est substitué par un oxyde de pyridine ce temps passe à 39 ns. De même si la substitution est réalisée avec une phosphinate ce temps de vie est de 16 ns. Pour ce dernier, une augmentation de la relaxivité est effectivement observée ($6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 20 MHz à 25°C contre 4.2 pour le DOTA-Gd).

Le temps de corrélation rotationnel

La fréquence de Larmor pour la plupart des appareils IRM existant se situe entre 40 et 65 MHz. L'augmentation du temps de corrélation rotationnel permet de s'approcher de la fréquence de Larmor du proton et ainsi de diminuer le T_1 . L'augmentation du temps de corrélation rotationnel peut être obtenue notamment en utilisant des architectures macromoléculaires. Plusieurs macromolécules peuvent être envisagées comme par exemple les polymères^[7], les dendrimères^[8], les protéines^[9], des capsides de virus.^[10] L'élaboration d'ACs macromoléculaires peut se faire de manière covalente ou supramoléculaire.

- Les polymères

Plusieurs polymères sont décrits dans la littérature pour ces applications: les poly(L-lysine), les polysaccharides, les polyéthylène glycol.

Sur la Figure 7, des poly(L-lysine) ont été fonctionnalisées soit par des complexes de type DOTA soit DTPA. Il n'existe pas de réelle corrélation entre la longueur du polymère et l'augmentation de relaxivité. L'augmentation de la taille permet d'augmenter le τ_R mais ce gain finit par atteindre ses limites à cause de la flexibilité interne du polymère.^[7]

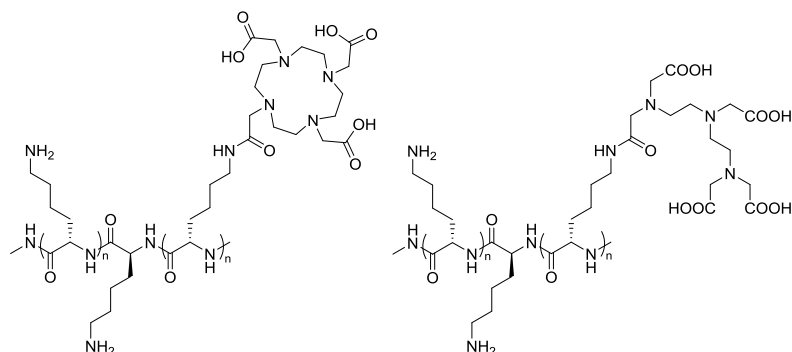


Figure 7 : poly(L-lysine) fonctionnalisée par des DOTA (à droite) ou DTPA (à gauche)

- Dendrimères

L'un des premiers dendrimères ACs reporté est basé sur des polyamidoamine (PAMAM) couplés à des complexes de gadolinium. Le PAMAM G-6 affiche une excellente relaxivité par rapport au complexe commercial avec une relaxivité de $34 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ contre $4.2 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (à 20 MHz à 25 °C).^[11]

Un autre exemple de cette approche est présenté sur la Figure 8 où le composé Gadomer17 a une relaxivité de $11,9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à 40 MHz (37°C).^[12]

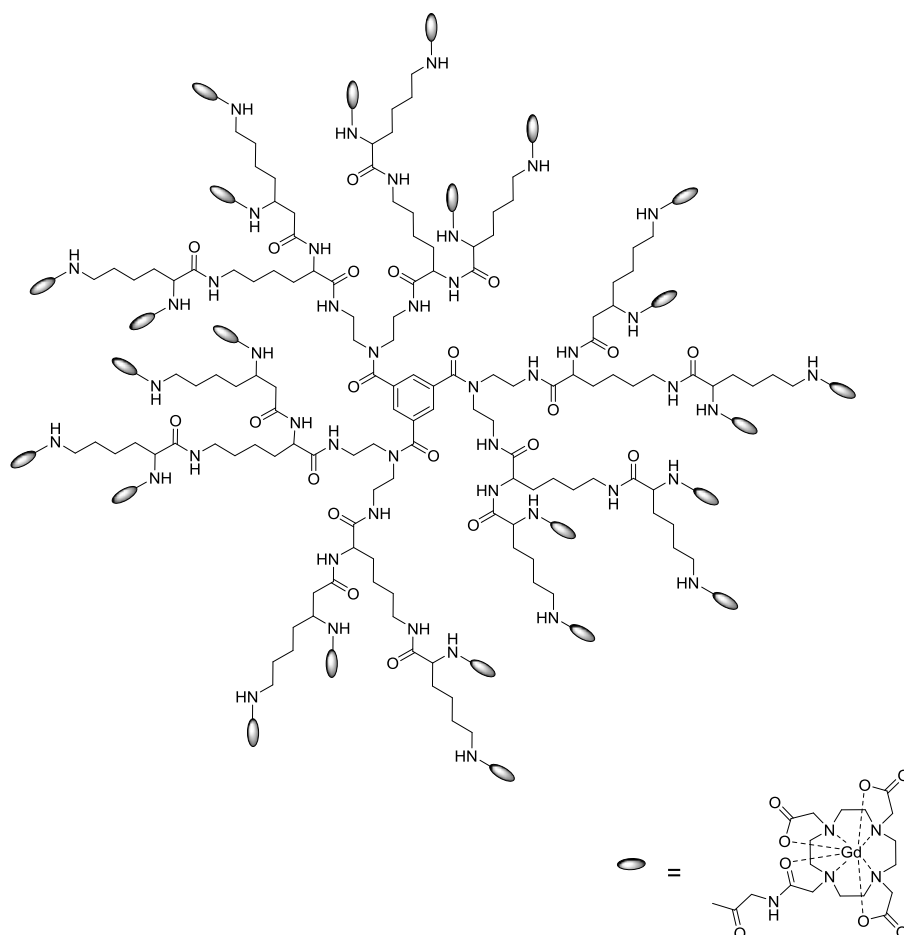


Figure 8 : Gadomer 17

Il faut noter que, même si une augmentation importante de la relaxivité est observée lorsque des macromolécules sont utilisées, il n'existe pas d'ACs approuvés pour l'utilisation clinique. Le principal problème de ce type d'architecture est la difficile élimination des macromolécules de l'organisme (toxicité potentielle).

b. Imagerie optique de fluorescence

L'imagerie de fluorescence est une technique émergente comparée aux autres techniques d'imagerie (IRM, CT, PET et SPECT). La plupart des applications de ce type d'imagerie sert à faire des études *in vitro*. Mais le développement *in vivo* notamment sur l'étude du petit animal est en pleine expansion.^[13]

Principe

La fluorescence (et la phosphorescence) sont des phénomènes particuliers de la luminescence. Les espèces chimiques absorbent des photons et passent d'un état fondamental à un état excité. L'émission de photon par les composés à la suite de cette absorption est appelé photoluminescence. Les espèces excitées émettent à des longueurs d'onde plus grandes que celle de l'excitation.

La quantité d'énergie absorbée est donnée par la relation de Planck :

$$E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad \text{Équation 5}$$

Où h est la constante de Planck (J.s), ν la fréquence (Hz), λ la longueur d'onde (m), c la vitesse de la lumière (m.s⁻¹). Chaque état excité possède plusieurs états vibrationnels.

Le diagramme de Perrin-Jablonski décrit Figure 9 permet de visualiser en détail les phénomènes physiques qui interviennent lors l'absorption/émission d'un chromophore. Le fluorophore qui se trouve dans son état fondamental (S_0) passe dans un état excité S_n . Ensuite pour un composé fluorescent, l'électron qui se trouve à l'état excité retourne très vite (ns) à l'état fondamental avec une perte d'énergie et l'émission d'un photon avec une longueur d'onde plus élevée (transition radiative). La différence entre la longueur d'onde d'émission et la longueur d'onde d'excitation est appelée déplacement de Stokes. Une molécule qui se trouve dans un état excité peut retourner à l'état fondamental sans émission radiative.

Pour un composé phosphorescent le composé excité à l'état singulet passe, par un phénomène de conversion inter-système à l'état triplet T_1 par un couplage spin-orbite.

Ensuite, de cet état triplet le composé repasse à l'état fondamental. La durée de vie de l'état excité triplet est plus longue (μs à ms) que l'état excité singulet.

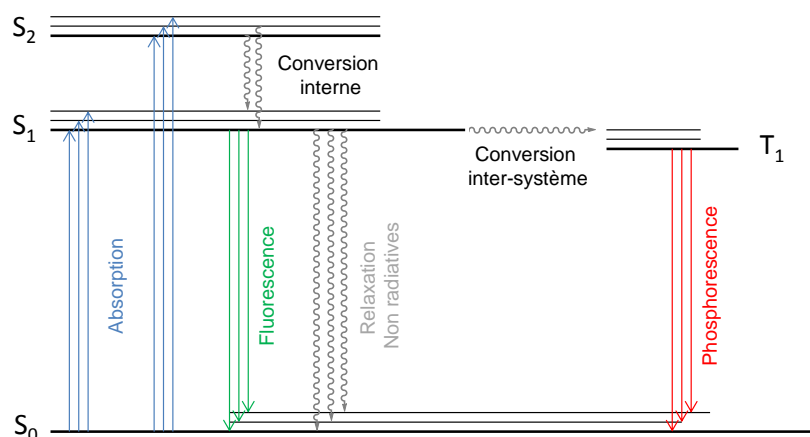


Figure 9 : diagramme de Perrin-Jablonski

Les sondes fluorescentes doivent pouvoir absorber et émettre vers le proche infrarouge (650-850 nm) pour les applications *in vivo*. En effet c'est dans cette fenêtre ou l'eau, les molécules endogènes (comme l'hémoglobine, la mélanine, le collagène) absorbent le moins la lumière. De plus entre 200-650 nm, il y a l'auto-fluorescence de certains tissus ce qui peut créer des faux positifs (Figure 10).^[14]

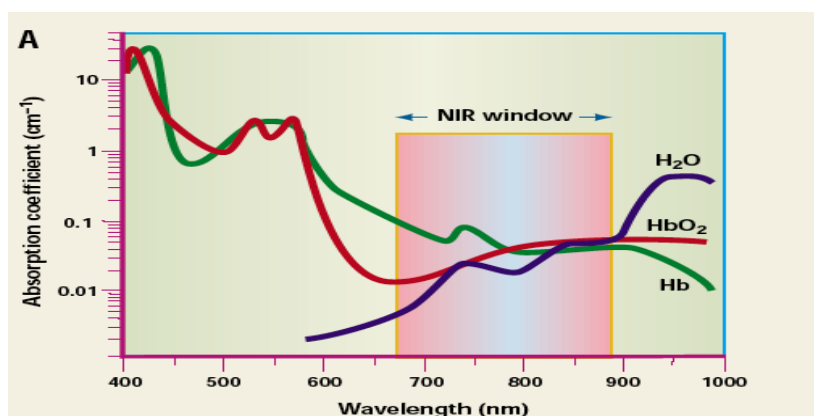


Figure 10 : Coefficient d'extinction molaire de l'eau, de l'hémoglobine (Hb) et de l'oxyhémoglobine (HbO₂)

Cette imagerie a pour but la visualisation de l'activité des cellules durant les processus biologiques, notamment dans les maladies comme le cancer. Plusieurs techniques ont été développées pour l'observation de ces phénomènes :

- La microscopie multiphotonique

- La microscopie confocale

Il existe aussi des méthodes de fluorescence qui permettent de visualiser des phénomènes biologiques à l'échelle macroscopique. Il y en a deux principaux :

- la fluorescence par réflexion. Cette imagerie doit être utilisée pour observer les tissus en surface car elle possède une faible pénétration tissulaire.
- La fluorescence tomographique.

Les sondes pour l'imagerie de fluorescence

Il existe une grande variété de sondes fluorescentes. Les sondes fluorescentes peuvent être séparées en deux catégories : les molécules organiques et les molécules inorganiques. De nombreuses sondes ont donc été synthétisées.

Les rhodamines et les fluorescéines sont les sondes organiques les plus courantes pour l'imagerie *in vitro*. D'autres sondes organiques existent comme les cyanines, les BODIPYs, les squaraines et les dérivés de porphyrine. Ici seront données quelques informations succinctes sur ces différentes sondes. Les informations sur la BODIPY et les cyanines notamment seront détaillées dans le chapitre 2. Un échantillon des différentes sondes organiques est présenté sur la Figure 11.

- Les cyanines (27 et 28 sur la Figure 11)

La seule sonde fluorescente avec une longueur d'onde dans le proche infrarouge approuvée par la FDA est une cyanine (indocyanine green ICG). Les cyanines présentent deux hétérocycles azotés connectés par un pont « polyméthine ». En faisant varier la longueur de ce pont les propriétés d'absorption et d'émission de la sonde peuvent être ajustées. Elles présentent un coefficient d'extinction molaire très élevé (autour de $200\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) mais un faible rendement quantique en milieu physiologique (1 à 18%).

- Les squaraines

Les squaraines se composent d'un cœur d'oxocyclobutanolate lié à un des cycles aromatiques ou à des hétérocycles. Ces composés possèdent de grand ϵ , rendement quantiques et une grande stabilité mais l'inconvénient principal est leur manque de solubilité.

- Les BODIPY (borondipyrrométhane) (25 sur la Figure 11)

Les BODIPY ont une fluorescence fine, de bon rendements quantiques, et une bonne stabilité thermique, pH et photochimique.

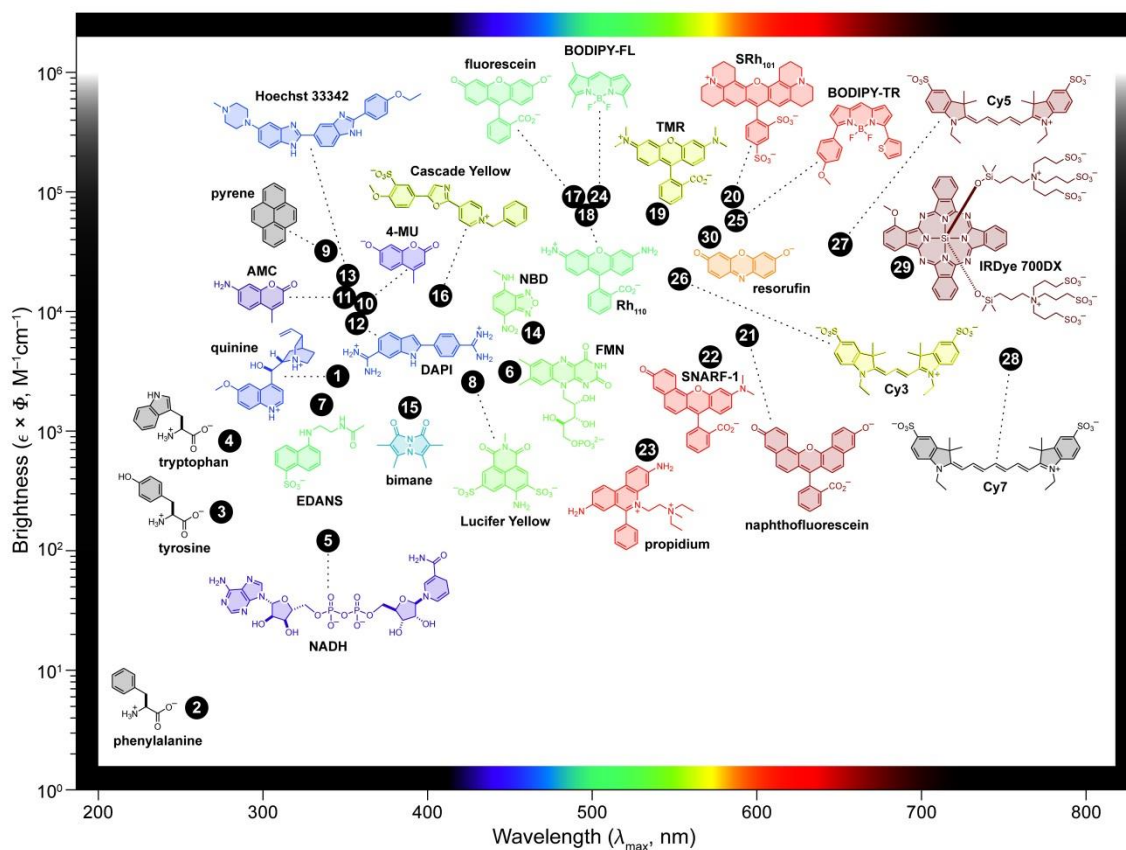


Figure 11 : exemples de sondes fluorescentes organiques^[15]

La plupart des sondes fluorescentes inorganiques sont des QDs (ou autres nanoparticules). Les QDs sont composés d'un cœur semi-conducteur qui va conférer aux particules ses propriétés de fluorescence (par exemple CdSe, CdTe, PbS). Ces matériaux étant toxiques une coque est rajoutée autour de la particule pour l'isoler mais aussi la stabiliser. Leur taille varie en général entre 2 et 8 nm.^[16]

Il existe également un autre type d'objet fluorescent, les Green Fluorescent Protein (GFP) qui émettent dans le vert voire jusque dans le rouge. Ces protéines qui sont biocompatibles sont néanmoins difficiles à fonctionnaliser et à caractériser.^[17]

2. Imagerie bimodale

Pour avoir une bonne technique d'imagerie, certains critères doivent être satisfaits comme une haute résolution, une bonne sensibilité, une faible toxicité et une interprétation facile. Malheureusement une seule technique ne peut satisfaire toutes ces conditions.

La combinaison de différents types d'imagerie permet d'avoir des informations complémentaires. En effet, chaque méthode d'imagerie prise indépendamment présente ses propres avantages et inconvénients. Le fait de les combiner dans un agent d'imagerie multimodal permet allier les avantages tout en s'affranchissant de leurs inconvénients. Le plus souvent, deux techniques sont combinées : un agent bimodal est alors obtenu. Ainsi l'utilisation d'une méthode qui possède une haute résolution spatiale et un autre possédant une très haute sensibilité permet d'avoir un agent bimodal.

Sur la Figure 12 est représenté la comparaison entre des différentes techniques d'imagerie soit selon la sensibilité de chaque technique, soit selon la pénétration tissulaire.^[1] En général, une technique possédant une très bonne sensibilité présente une faible résolution spatiale.

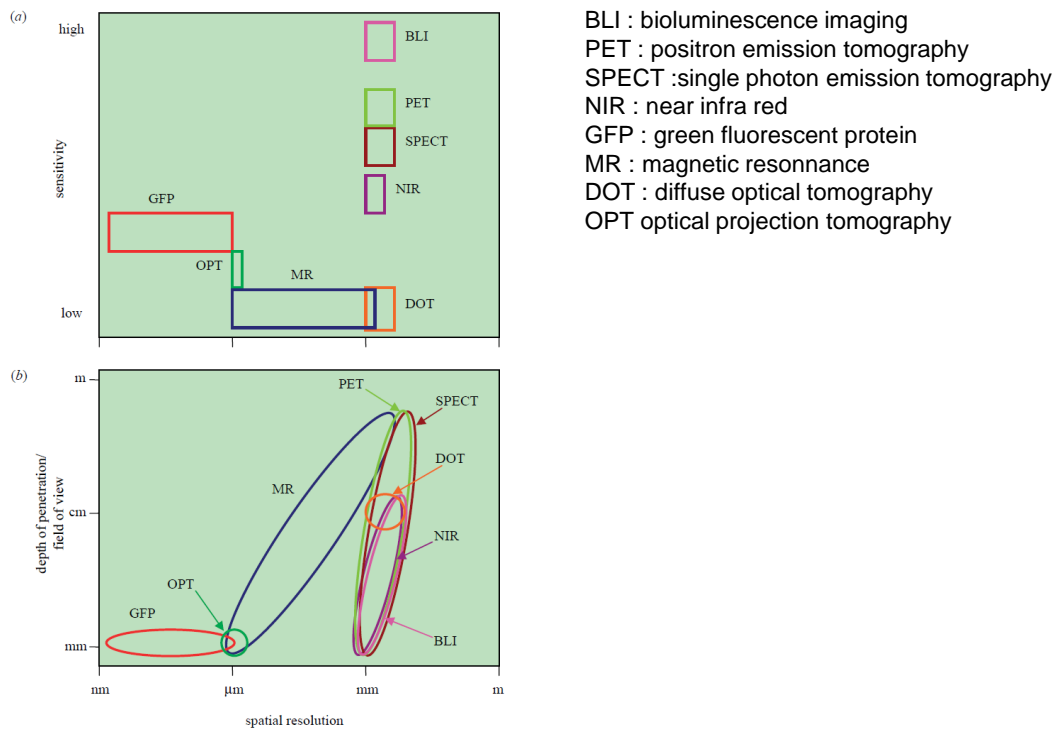


Figure 12 : (a) Comparaison de la sensibilité en fonction de la résolution spatiale et (b) de la profondeur de pénétration tissulaire en fonction de la résolution spatiale pour différentes techniques d'imagerie.

Plusieurs combinaisons de techniques existent déjà sur le marché.^[18] En 1998, les premiers appareils capables de faire l'acquisition de clichés bimodaux ont été commercialisés. Les imageries combinées étaient la PET et la CT ainsi que la SPECT et la CT. Par la suite les premiers appareils combinant PET et IRM ont vu le jour. Les techniques utilisant la

fluorescence restent pour la plupart expérimentales mais elles ont un grand potentiel au niveau de l'étude clinique mais aussi sur le petit animal.

La PET, la SPECT et la CT ont l'inconvénient principal d'utiliser des rayons ionisants qui sont délétères (en comparaison avec l'IRM). L'élaboration d'un agent bimodal combinant la fluorescence et l'IRM est un défi à relever. Plusieurs stratégies existent pour l'élaboration d'un tel agent bimodal :

- l'agent de contraste (AC) lié de manière covalente à la sonde fluorescente
- l'AC associé de manière non covalente

Les premiers exemples de sondes qui lient l'AC et la sonde covalamment apparaissent en 1998 avec le travail de Hueber *et al.* ou un complexe de DOTA-Gd est couplé à une rhodamine (Figure 13).^[19] Le complexe de Gd sert d'agent de contraste pour l'IRM et la rhodamine pour l'imagerie de fluorescence.

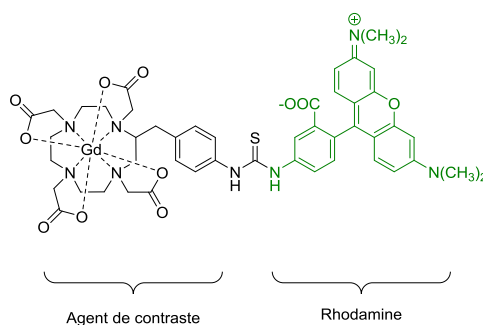


Figure 13 : Sonde bimodale covalente^[19]

Une des premières approches pour la stratégie non-covalente était de faire un mélange de complexes de Gd et d'Eu avec le même ligand (le complexe d'Eu étant photoluminescent) comme par exemple le ligand de la Figure 14 qui possède en plus une unité benzodiazépine pour le ciblage.^[20]

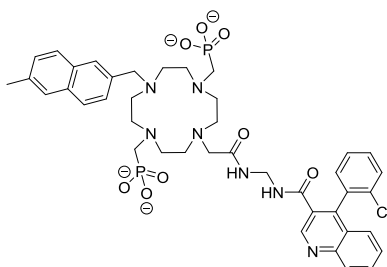


Figure 14 : Ligand pour le Gd(III) et l'Eu(III)^[20]

Il existe plusieurs approches pour l'élaboration d'agents multimodaux comme l'utilisation de liposomes et de lipoprotéines, de nanoparticules (*e. g.* les quantum dots (QD)), ou de polymères.^[21]

Les liposomes peuvent être utilisés afin d'encapsuler les deux d'agents de contraste. Les liposomes (Figure 15) sont des sphères formées par une ou plusieurs couches bilipidiques avec une phase aqueuse entre les couches bilipidiques. Il en existe plusieurs types : les vésicules multilamellaires, les petites vésicules unilamellaires, les grandes vésicules unilamellaires. Les liposomes présentent de nombreux avantages au niveau biologique comme la biocompatibilité, l'encapsulation de produits hydrophiles, la protection des produits encapsulés dans l'organisme.^[22]

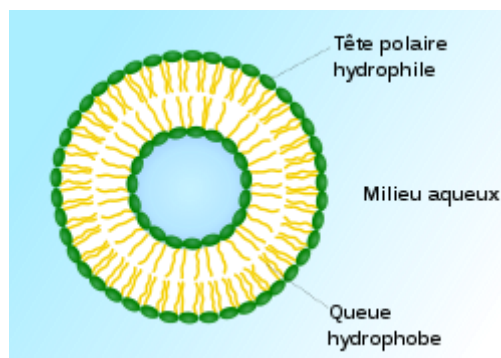


Figure 15 : Représentation schématique d'un liposome unilamellaire

L'avantage principal en tant que sonde multimodale est que le temps de résidence dans le système circulatoire sanguin est augmenté ce qui laisse le temps aux agents de contraste d'atteindre les organes cibles. Cependant, il est quand même nécessaire de modifier les lipides pour qu'éventuellement les ACs puissent atteindre les tissus cibles. Pour traverser les membranes cellulaires des liposomes cationiques peuvent être utilisés. Leur inconvénient principal est l'élimination difficile et une accumulation dans le foie, les reins, la rate et les poumons est observée. Un effet toxique peut être alors observé si un composé s'accumule trop longtemps dans l'organisme.

A la place de la simple encapsulation, les ACs peuvent être liés de façon covalente avec les lipides servant à faire le liposome. L'agent de contraste pour l'IRM ou la sonde fluorescente peuvent faire office de tête hydrophile pour le lipide.^[23] Dans l'exemple de la Figure 16, les auteurs ont réalisé la synthèse de deux types de lipides l'un fonctionnalisé par un complexe de Gd(III) et l'autre par une fluorescéine.

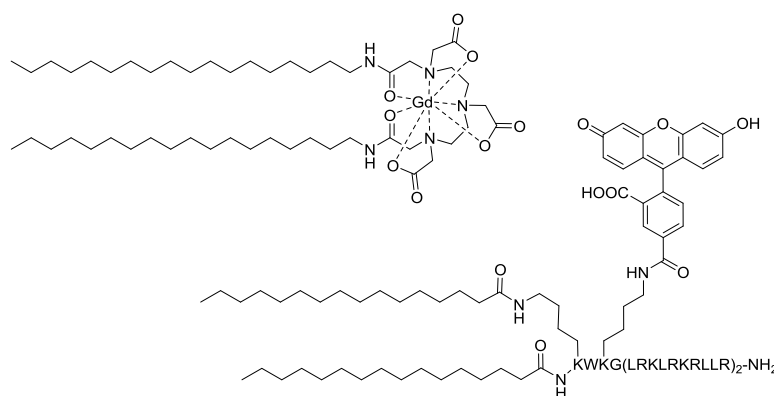


Figure 16 : Lipide fonctionnalisé soit par un complexe de Gd
soit par une sonde fluorescente^[23]

L'avantage par rapport à l'encapsulation est la certitude que les différents agents font parties du liposome. Il est à noter qu'une combinaison de l'encapsulation et d'un lien covalent entre les ACs ou la sonde fluorescente et le lipide est possible.

Les QDs grâce à leurs propriétés intrinsèques de fluorescence^[16] sont des objets intéressants pour la mise en place de nouveaux agents bimodaux. Il existe deux possibilités pour la réalisation d'un agent multimodal à l'aide de QDs.^[21] La première option est la fonctionnalisation directe du QD. En effet, les QDs possèdent des fonctions chimiques à leur surface et un simple couplage peut suffire pour obtenir un agent bimodal. Sur la Figure 17, un QD (CdSeTe/CdS) est fonctionnalisé par une couche de glutathion. Les fonctions amines du glutathion réagissent ensuite avec un ligand, qui pourra complexer le Gd(III).^[24] Ce QD présente des propriétés de fluorescence ($\lambda_{\text{exc}} = 695 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 795 \text{ nm}$) et des propriétés d'agent de contraste pour l'IRM apporté par les complexes de Gd(III).

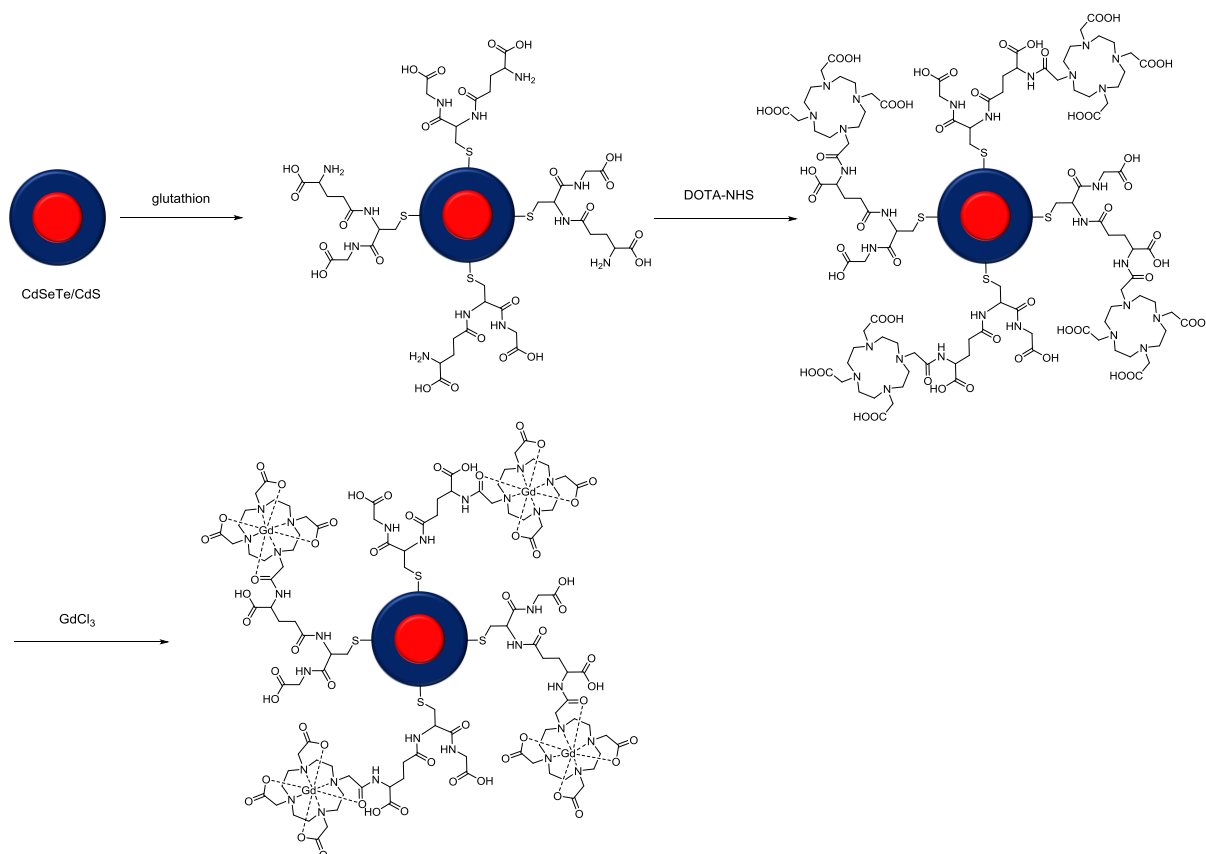


Figure 17 : Préparation d'un QD pour l'imagerie bimodale^[24]

Une deuxième stratégie est de doper un QD avec un métal paramagnétique (souvent le Manganèse) pour lui conférer des propriétés d'agent de contraste IRM. C'est la coque qui est souvent dopée au Mn.^[25]

Maintenant que nous avons défini les types d'imagerie que nous allons utiliser pour l'élaboration de notre agent bimodal, intéressons-nous aux architectures supramoléculaires qui nous ont inspirées pour ce nouvel agent.

II. Rotaxanes et polyrotaxanes

1. Les rotaxanes

a. Généralités sur les rotaxanes

Les rotaxanes sont parmi les molécules topologiquement complexes (avec les caténanes et les nœuds moléculaires) les plus connues et les plus étudiées. Un rotaxane est composé d'un axe, d'un macrocycle qui est enfilé sur celui-ci et de « bouchons » qui empêchent le désenfilage du macrocycle. S'il n'y a pas de bouchon la structure supramoléculaire est

appelée pseudo-rotaxane (Figure 18). Les premiers rotaxanes ont été décrits dans les années 1960 par Harrison.^[26]

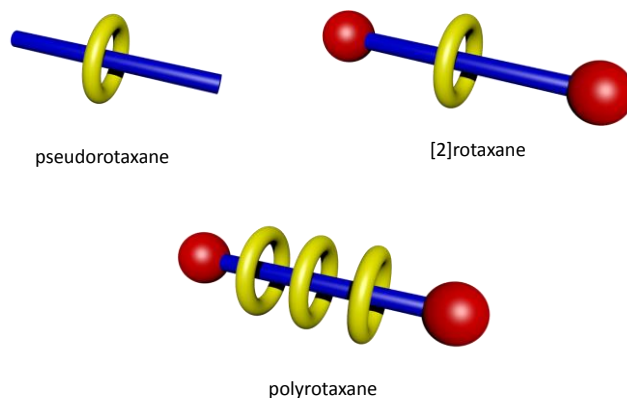


Figure 18 : Pseudorotaxane, rotaxane et polyrotaxane

Plusieurs macrocycles ont été utilisés pour la synthèse de rotaxanes : les cyclodextrines,^[27] les cycloalcane,^[28] les éthers couronnes,^[29] les cyclophanes,^[30] les cucurbituryles^[31], les calixarènes^[32]. Pour chaque macrocycle un axe différent sera préférentiellement utilisé puisque l'affinité de la cavité dépend de l'axe et du solvant. Les rotaxanes sont nommés en fonction du nombre d'éléments qui le composent. Par exemple s'il comprend un axe et un seul macrocycle celui-ci est appelé [2]rotaxane (Figure 18).

Les rotaxanes sont notamment utilisés pour leurs propriétés en tant que machine moléculaire, interrupteur moléculaire, et de détecteur. Les rotaxanes qui sont les plus décrits sont les [2]rotaxanes.

Trois approches principales existent dans la littérature pour la synthèse de rotaxanes (Figure 19)^[33] :

- Enfilage suivi du bouchonnage
- Le « clipping »
- Le « slippage »

L'enfilage consiste tout d'abord à faire le complexe d'inclusion entre le macrocycle et l'axe, puis le couplage de bouchons avec l'axe qui est appelé la réaction de rotaxanation. Pour le « clipping » le macrocycle est formé autour de l'axe qui possède déjà les bouchons. Le « slippage » consiste à l'enfilage du macrocycle sur un axe où les stoppeurs sont déjà présents. Une autre méthode (« active metal template ») a été développée par D. Leigh où le

macrocycle et les autres réactifs servent de template à un métal.^[34] Tous les réactifs sont introduits « one pot ».

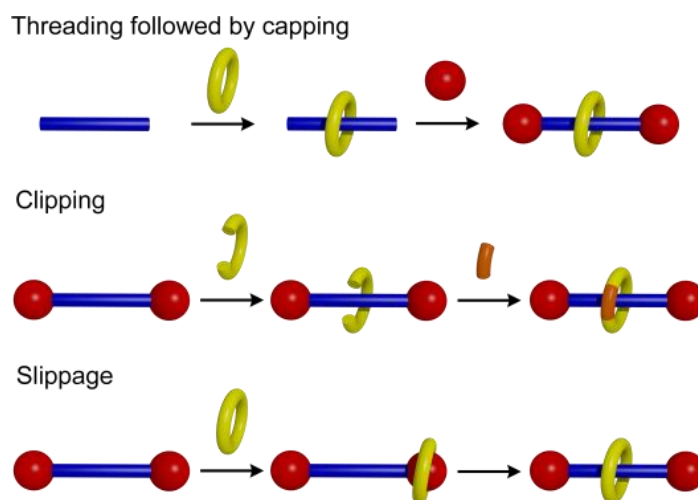


Figure 19 : Méthodes de synthèse des rotaxanes

La synthèse de rotaxanes ne s'avère pas aussi simple que cela car plusieurs facteurs entrent en jeu. La première est que le complexe d'inclusion formé entre l'axe et le macrocycle doit être suffisamment stable. L'axe doit être assez long pour permettre la réaction de rotaxanation. Le complexe d'inclusion doit être soluble dans le solvant utilisé. Le rotaxane doit être facilement isolable du milieu réactionnel.

Les macrocycles enfilés sur un axe ont la possibilité d'avoir un mouvement de translation et/ou de rotation le long de l'axe. Les molécules navettes peuvent être mises en mouvement de façon contrôlée par induction chimique, électrochimique ou photochimique, par changement de solvant ou de température.

J. P. Sauvage a élaboré un [2]rotaxane comprenant un macrocycle qui contient deux sites de coordination, l'un bidentate (une phénantroline) et l'autre tridentate (une terpyridine) (Figure 20). Ce macrocycle est enfilé sur un axe contenant un ligand bipyridine.

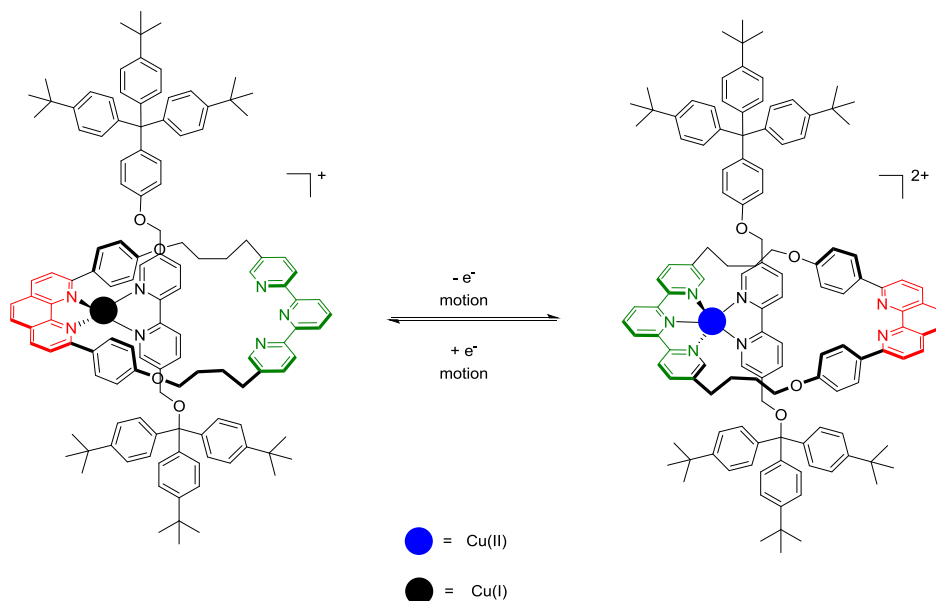


Figure 20 : [2]rotaxane pouvant induire une « pirouette »^[35]

Dans un premier temps la phénantroline du macrocycle et la bipyridine de l'axe coordine un Cu(I). En changeant le degré d'oxydation du Cuivre ($\text{Cu(I)} \rightarrow \text{Cu(II)}$) le macrocycle fait une « pirouette » de façon à ce que la terpyridine et la bipyridine chélatent le Cu(II). Ainsi en réduisant le Cu(II) ou en oxydant le Cu(I) de façon électrochimique (mais aussi de façon chimique) il est possible d'induire un mouvement du macrocycle sur l'axe.^[35]

L'un des exemples le plus remarquable de ces dernières années est la synthèse par le groupe de D. Leigh d'un rotaxane mimant la lecture ribosomale (Figure 21) de l'ARN m pour la synthèse de protéines.^[36]

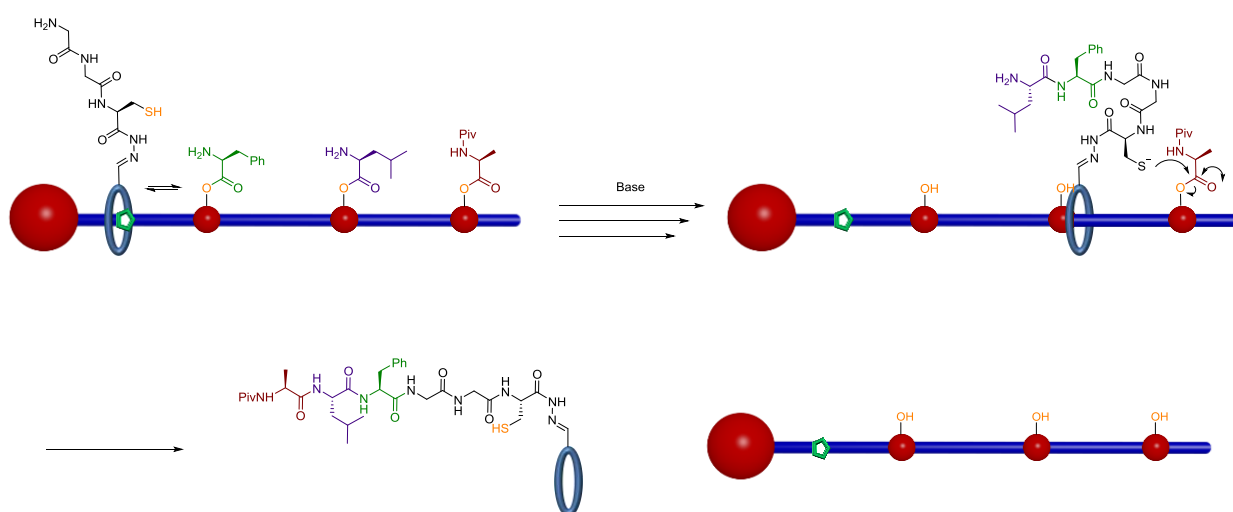


Figure 21 : Rotaxane mimant un ribosome

Ils ont synthétisé un rotaxane où le macrocycle porte un acide aminé. Ce dernier réagit avec un acide aminé qui se trouve juste à côté sur l'axe et joue le rôle de bouchon temporaire pour donner un diacide aminé qui est toujours porté par le macrocycle. Le macrocycle se déplace ainsi le long de l'axe permettant l'élongation de la chaîne peptidique sur le macrocycle. Chaque acide aminé porté par la chaîne joue le rôle de bouchon qui est enlevé lors de la croissance de la chaîne. Arrivé en bout de chaîne le macrocycle se désenfile pour libérer le peptide.

Dans la suite de cette introduction sur les rotaxanes, intéressons-nous davantage aux rotaxanes de cyclodextrines.

b. Les rotaxanes de cyclodextrine

Les cyclodextrines ont été isolées pour la première fois en 1891 par A. Villiers comme produit de dégradation de l'amidon.^[37] Les cyclodextrines (CD) sont des oligomères cycliques de glucopyranoside liés par des liaisons α -1,4. Si il y a 6, 7 ou 8 unités sucres ces CDs sont respectivement appelées α -, β -, γ -CDs (Figure 22). Les CDs se présentent sous la forme de cône tronqué. La cavité est hydrophobe et l'extérieur est hydrophile. Elles ont deux couronnes de fonctions hydroxyles ; l'une avec des hydroxyles primaires (couronne primaire) et l'autre avec des hydroxyles secondaires (couronne secondaire).

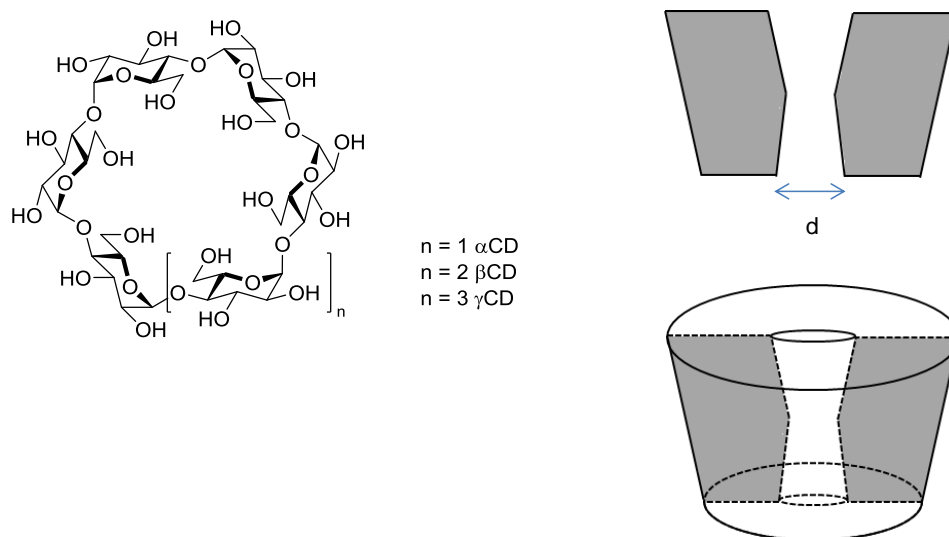


Figure 22 : Cyclodextrine

La cavité hydrophobe de la CD lui permet de former des composés d'inclusion de type hôte-invité. Cette propriété permet à la CD de se trouver dans plusieurs domaines d'application. En cosmétique et en agroalimentaire, elle permet l'encapsulation des

substances odorantes ou gustatives. Dans le domaine pharmaceutique, elle permet la solubilisation et la vectorisation des principes actifs. Elle est aussi utilisée pour l'élaboration de colonnes chromatographiques chirales.

Les CDs possèdent de nombreux avantages : une bonne disponibilité, une fonctionnalisation facile, une bonne solubilité dans l'eau (Tableau 1), et la biocompatibilité.

Les principales forces motrices qui permettent à un axe de s'inclure dans la CD pour former un complexe d'inclusion sont les interactions hydrophobes et les interactions de Van der Waals. La taille des composés détermine principalement l'inclusion d'un invité ou non dans la cavité de la CD.

Tableau 1 : Caractéristiques des cyclodextrines

	α -CD	β -CD	γ -CD
Diamètre de la cavité interne d (en Å)	4,9	6,2	7,9
Solubilité dans l'eau (g pour 100 mL)	14,5	1,85	23,2

Les complexes d'inclusion de CDs peuvent être classés en trois catégories en fonction de l'axe (Figure 23) :

- Les complexes d'inclusion avec des invités apolaires
- Les complexes d'inclusion d'agents amphiphiles
- Les complexes d'inclusion avec les invités bola-amphiphiles

Dans les complexes d'inclusion avec des entités apolaires des canaux vont se former où les CDs sont empilées de telle manière à former des colonnes. Ces espèces sont en général très peu solubles. Des liaisons hydrogènes se forment entre les CDs.

Dans le cas des espèces amphiphiles la queue hydrophobe s'insère dans la cavité de la cyclodextrine alors que la tête hydrophile va, elle, rester à l'extérieur de la cavité. En général, ces complexes d'inclusion restent solubles. En effet les têtes hydrophiles vont se repousser et empêcher la formation de colonne comme dans le cas des invités lipophiles.

Les espèces bola-amphiphiles se comportent comme les espèces amphiphiles avec inclusion de manière à ce que la partie lipophile de l'axe soit en contact avec la cavité de la CD. Comparé aux espèces amphiphiles leur inclusion dans la cyclodextrine est beaucoup plus lente. En effet la CD doit franchir une barrière énergétique plus importante à cause de l'encombrement des deux têtes polaires (Figure 23).

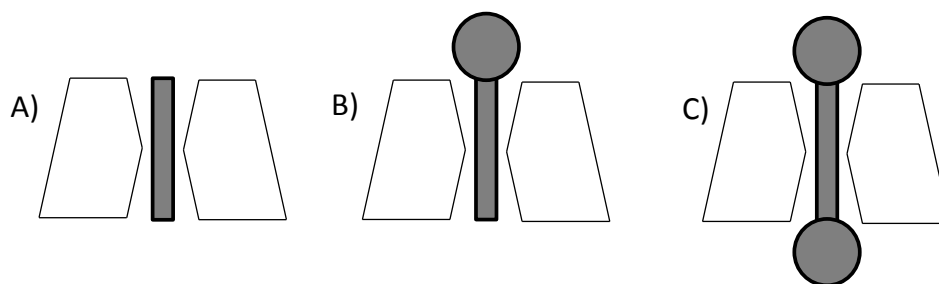


Figure 23 : Les différents types de complexes d'inclusion de CD : (A) avec un invité lipophile, (B) avec une espèce amphiphile, (C) avec une espèce bola-amphiphile

La plupart des rotaxanes de CD qui existent sont des [2]rotaxanes et des [3]rotaxanes. Le premier rotaxane de CD a été synthétisé par Ogino.^[38] Il s'agit d'une β -CD enfilée sur un diaminodécane qui est bouché par un complexe de bis(éthylènediamine)Cobalt(III). Le rendement de rotaxanation est de 19% (Figure 24).

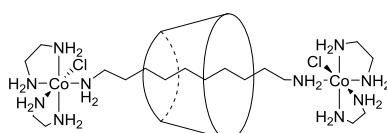


Figure 24 : Premier rotaxane de CD^[38]

Dans l'exemple de la Figure 25, la cyclodextrine est enfilée sur un motif stilbène. Ici, les auteurs ont mis en évidence la modification de la conformation du rotaxane en fonction de l'isomérisation *Z/E* du stilbène.^[39] Dans ce cas c'est l'énergie lumineuse qui est utilisée pour modifier la structure du rotaxane.

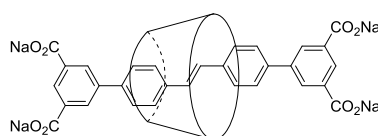


Figure 25 : [2]rotaxane de CD enfilé sur un stilbène^[39]

Sur la Figure 26, on peut voir un « muscle moléculaire » à base de rotaxane de CDs.^[40] Quand les azobenzènes sont sous leur forme (*Z,Z*) les CDs peuvent les encapsuler. Sous l'effet de la lumière, les azobenzènes vont se retrouver dans la forme (*E,E*) ; les CDs vont être expulsées et le bras va ainsi se contracter comme un muscle.

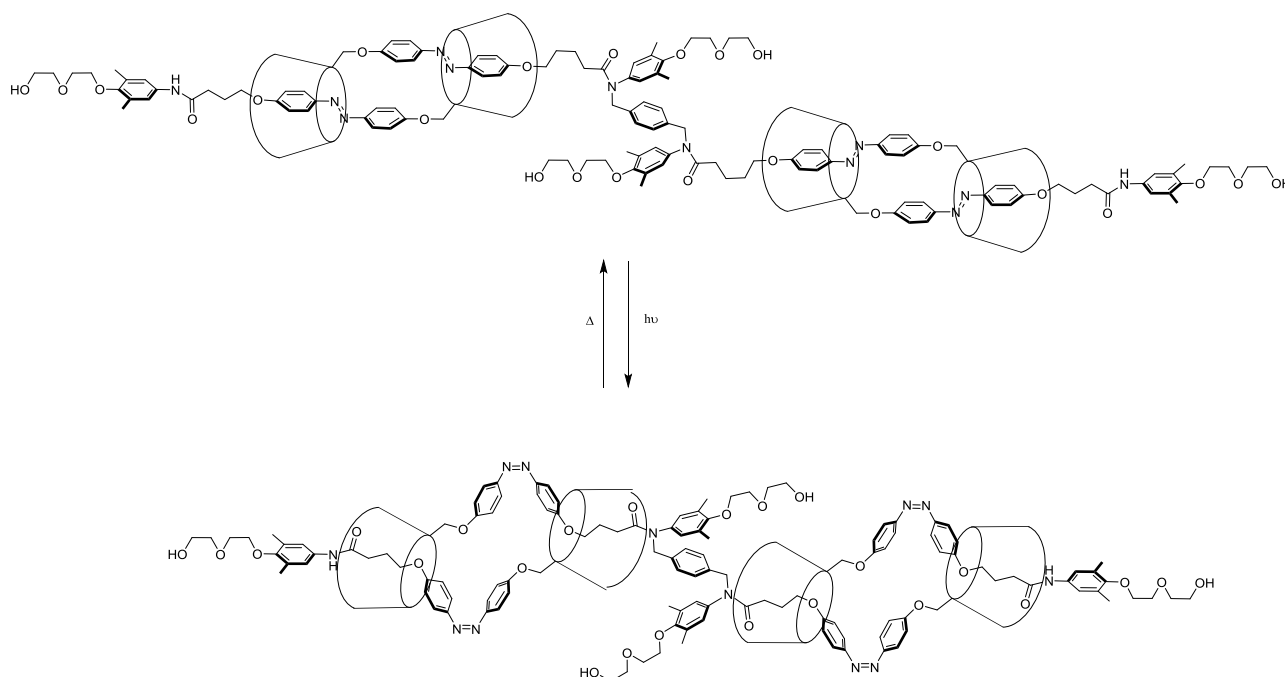


Figure 26 : Rotaxane de CD formant un muscle moléculaire

La synthèse de rotaxanes de cyclodextrine reste quelque chose de délicat car plusieurs paramètres doivent être maîtrisés comme la nature de l'axe et le choix des bouchons.

2. Polyrotaxanes

Comme pour les rotaxanes, il existe plusieurs familles de polyrotaxanes avec des macrocycles différents (et axes différents). Les principaux exemples de polyrotaxane (PR) et polypseudorotaxane (PPR) utilisent des éthers couronnes, des calixarènes, des cucurbituriles et des CDs.^[41] Comme leur nom l'indique les PR et PPR sont des polymères de rotaxanes et pseudorotaxanes. Plusieurs types de PR et PPR existent selon le positionnement des rotaxanes sur la chaîne. Deux principaux types peuvent être distingués: les « chaînes principales » si le rotaxane fait partie de la chaîne principale du polymère et les « chaînes latérales » si les rotaxanes sont pendants par rapport au polymère.

Pour obtenir des PR « chaînes principales », le plus simple est d'enfiler un macrocycle sur un polymère.

L'équipe de F. Stoddart a synthétisé, par exemple, un polyrotaxane de cyclobis(paraquat-*p*-phénylène) enfilé sur un polymère de 1,5-dioxynaphtalène (Figure 27).^[42] Ce polyrotaxane pourrait être utilisé pour des applications dans des systèmes électromécaniques.

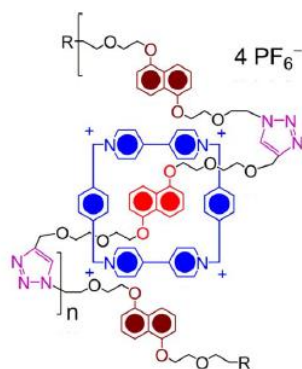


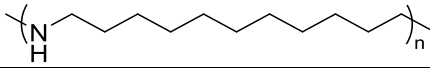
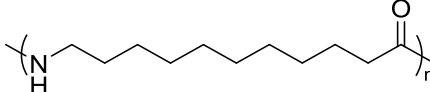
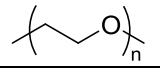
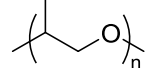
Figure 27 : Polyrotaxane à base de cyclobis(paraquat-p-phénylène)

Plusieurs autres exemples de polyrotaxanes existent mais la plupart des polyrotaxanes sont décrits avec l'utilisation des CDs comme macrocycle. Dans la suite nous nous attacherons à la description de quelques exemples de PR de CDs natives et ensuite quelques exemples de PR de CD fonctionnalisées.

a. Polyrotaxanes de cyclodextrines natives

L'enfilage de la CD sur les polymères est gouverné principalement par l'enthalpie (la différence d'entropie étant négligeable). Les principales contributions à ces forces enthalpiques sont les interactions hydrophobes et les forces de Van der Waals, et la formation des liaisons hydrogène, quand cela est possible, entre les CDs adjacentes. Si la CD est trop grande par rapport au polymère l'enfilage sera moins efficace ; en effet les interactions faibles de type Van der Waals décroissent très vite en fonction de la distance. Plusieurs polymères peuvent être utilisés (Tableau 2) : le polyéthylène glycol^[43], le polypropylène glycol^[44], le Nylon 11, les polysiloxanes,^[45] les polyamines (Tableau 2).^[46]

Tableau 2 : Quelques exemples de chaînes polymériques et leur CD préférentielle pour former des PR^[47]

Chaîne polymérique	Cyclodextrine
Poly(siloxane) $\left(\text{Si} - \text{O} \right)_n$	β -CD
Polyamine 	α -CD
Polyamide 	α -CD
Polyéthylène glycol 	α -CD
Polypropylène glycol 	β -CD, γ -CD

Il faut noter que la fonctionnalisation des CDs défavorise la formation des pseudorotaxanes puisqu'elle empêche la formation des liaisons hydrogène entre les macrocycles. De plus l'augmentation de l'hydrophilie de la chaîne polymérique défavorise aussi l'enfilage car il est nécessaire de désolvater l'axe.

Pour l' α -CD, deux principaux polymères ont été utilisés pour la synthèse de polyrotaxanes : le poly(éthylène glycol) et les polyamines (ou les polyammonium). Le premier PR à base de CDs et de poly(éthylène glycol) (PEG) a été décrit par A. Harada au début des années 1990 (Figure 28).^[43] Les CDs sont enfilés sur un PEGbis-amine. Ensuite par une réaction de substitution nucléophile aromatique sur le 2,4-dinitrofluorobenzène, les bouchons 2,4-dinitrophényles sont introduits. Ce PR n'est pas soluble dans l'eau, car la formation de liaisons hydrogène entre les CDs adjacentes entraîne la précipitation de l'édifice. Ce manque de solubilité peut s'avérer être un problème pour les éventuelles applications en biologie.

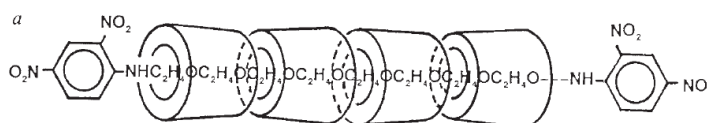


Figure 28 : Premier polyrotaxane à base de CD et de PEG

Pour obtenir une solubilité dans l'eau, l'utilisation des polyamines peut être envisagée. Les polyamines qui ont une chaîne alkyle supérieure à six carbones peuvent s'inclure dans la CD si les amines du polymère sont protonées. Mais les polyammoniums issus de la simple protonation des amines ne donnent pas d'édifices stables dans l'eau. En effet les CDs auront tendance à se désenfiler. La formation d'ammoniums quaternaires par méthylation (par exemple du polymère) permet d'avoir des PPR stables à température ambiante dans le temps. Ce type de PPR a été décrit pour la première fois par G. Wenz en 1992.^[46] Dans ce cas, une polyamine 11 est perméthylé et ensuite les α -CDs sont enfilées sur le polyammonium (Figure 29).

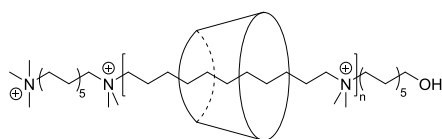


Figure 29 : Polyrotaxane à base de CDs et polyammonium

D'autres axes peuvent être utilisés pour obtenir une solubilité des édifices dans l'eau. Un exemple remarquable est l'utilisation d'un couplage palladocatalysé pour la synthèse d'un PR de β -CDs.^[48] Dans cet exemple le groupe d'Anderson utilise un ester d'acide boronique et un composé aromatique iodé. Dans un milieu aqueux des pseudorotaxanes vont se former et ensuite une polymérisation par couplage de Suzuki va entraîner la formation du PPR. L'introduction d'un bouchon pendant l'élongation du PPR permet d'obtenir le PR qui a la propriété de rester soluble dans l'eau.

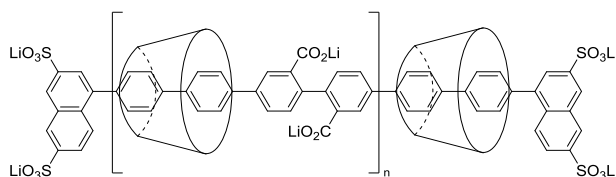


Figure 30 : Polyrotaxane de CD hydrosoluble

b. Polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées

La principale application des polyrotaxanes (ou PPR) de CD est leur utilisation en tant que biomatériaux^[49].

Il existe donc de nombreux exemples de polyrotaxanes avec des CDs natives dans la littérature. En revanche les exemples de polyrotaxane de CDs fonctionnalisées sont plus rares.

Mais les polyrotaxanes peuvent avoir plusieurs champs d'application comme l'imagerie par fluorescence,^[50] le transport et la vectorisation de principes actifs.^[51]

Les PRs de CD/PEG peuvent faire des hydrogels (s'il y a réticulation). Ces gels ont des propriétés thixotropiques (propriétés d'un matériau de passer d'un état solide à l'état liquide avec ou sans contrainte) et sont thermoréversibles. Des principes actifs, des protéines, des plasmides d'ADN peuvent être introduits dans le gel. Les gels contenant les molécules d'intérêts peuvent être injectés dans l'organisme pour qu'elles soient libérées lentement dans l'organisme.

Les CDs peuvent potentiellement être fonctionnalisées et enfilées pour donner des PRs fonctionnalisés. Deux stratégies sont possibles : soit la fonctionnalisation des CDs avant l'enfilage sur les polymères (pré-fonctionnalisation), soit la fonctionnalisation des CDs après synthèse des PRs (post-fonctionnalisation).

Dans l'exemple de la Figure 31, un PR de CD/PEG est dans un premier temps synthétisé. Ensuite, les hydroxyles de la CD sont activés aléatoirement par le carbonyle diimidazole (CDI). Le PR ainsi activé est mis en réaction avec un dipeptide Val-Lys. Ces derniers servent d'agent de ciblage. Ainsi, le fait de multiplier les fonctionnalités améliore la vectorisation.^[52]

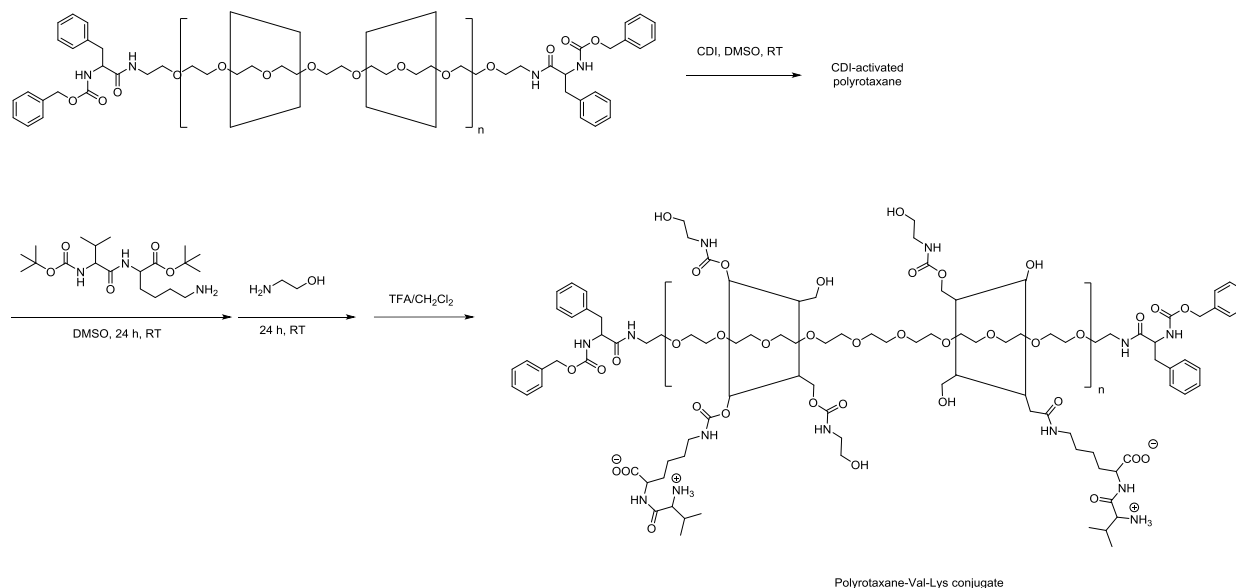


Figure 31 : Synthèse de polyrotaxane post-fonctionnalisée par Val-Lys

D'autres molécules d'intérêt peuvent aussi être greffées sur ces PRs. Sur la Figure 32, le PR de CD/PEG a été fonctionnalisé par des théophyllines (principe actifs contre l'asthme). Dans ce PR les bouchons sont clivables ainsi que les liens entre les principes actifs et la CD.

Le but des auteurs été de montrer le relargage des théophyllines et la biodégradabilité du PR dans l'organisme.^[53]

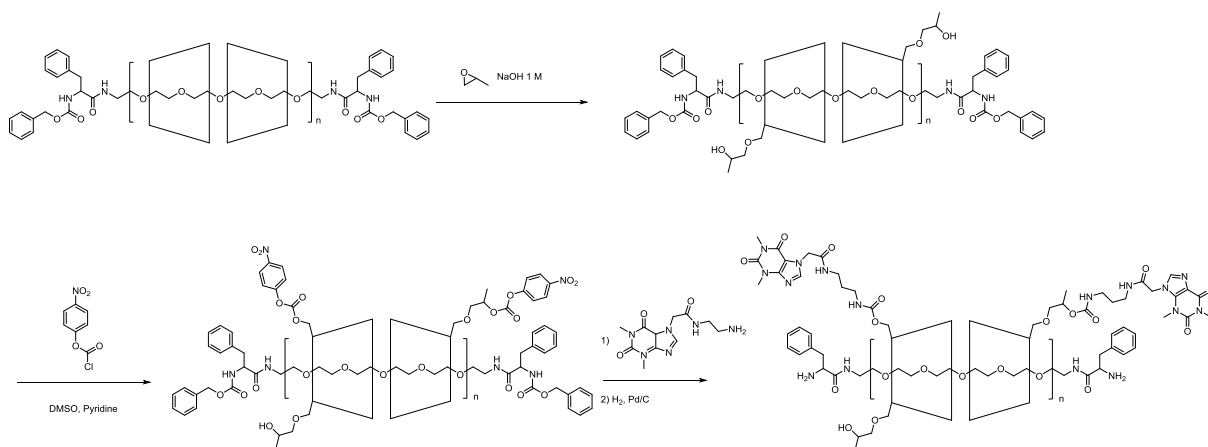


Figure 32 : Post-fonctionnalisation d'un PR par un principe actif

Les PR de CD ont aussi été étudiés pour la livraison de gènes et pour l'ingénierie de tissus. Ils peuvent aussi être utilisés pour leurs propriétés photo-électroniques. Par exemple, Ueno *et al.* ont créé plusieurs PRs de cyclodextrines pour étudier l'influence de la concentration de CD fonctionnalisées par des anthracènes sur les propriétés de fluorescence de ces PRs.^[54]

Il existe peu d'exemples de pré-fonctionnalisation des CDs avant l'enfilage sur les polymères. Contrairement à la post-fonctionnalisation, cette stratégie permet de contrôler la quantité de CD fonctionnalisées qui est enfilée et avoir une plus grande pureté des PRs. La plupart du temps, il s'agit de petits groupements fonctionnels qui sont introduits sur la CD. L'enfilage de CDs portant des fonctions azoture est possible.^[55] Les auteurs ont synthétisé un PR de CD mono-, di- ou tri-azoture. La présence de ces fonctions permet ensuite une fonctionnalisation sélective par click sur le PR. Dans ce cas ce sont des mannoses et oligophosphorylcholines qui sont conjuguées par réaction CuAAC (Figure 33).

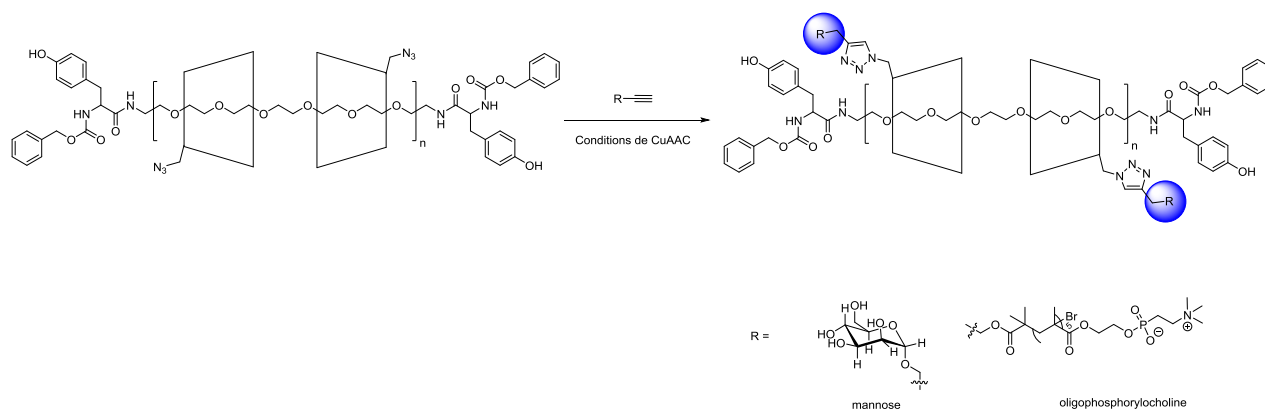


Figure 33 : Polyrotaxane de cyclodextrines portant des fonctions azoture pour la fonctionnalisation avec des mannoses et des oligophosphorylcholine

Sur la Figure 34, des CDs au préalable fonctionnalisées par des fonctions alendronates sont enfilées sur un PEG pour former un PPR. Le PR est obtenue ensuite par un couplage statistique (CuAAC) avec une rhodamine qui fait office de bouchons. Le problème de cette synthèse est le faible contrôle de la longueur de chaînes de PR.^[51]

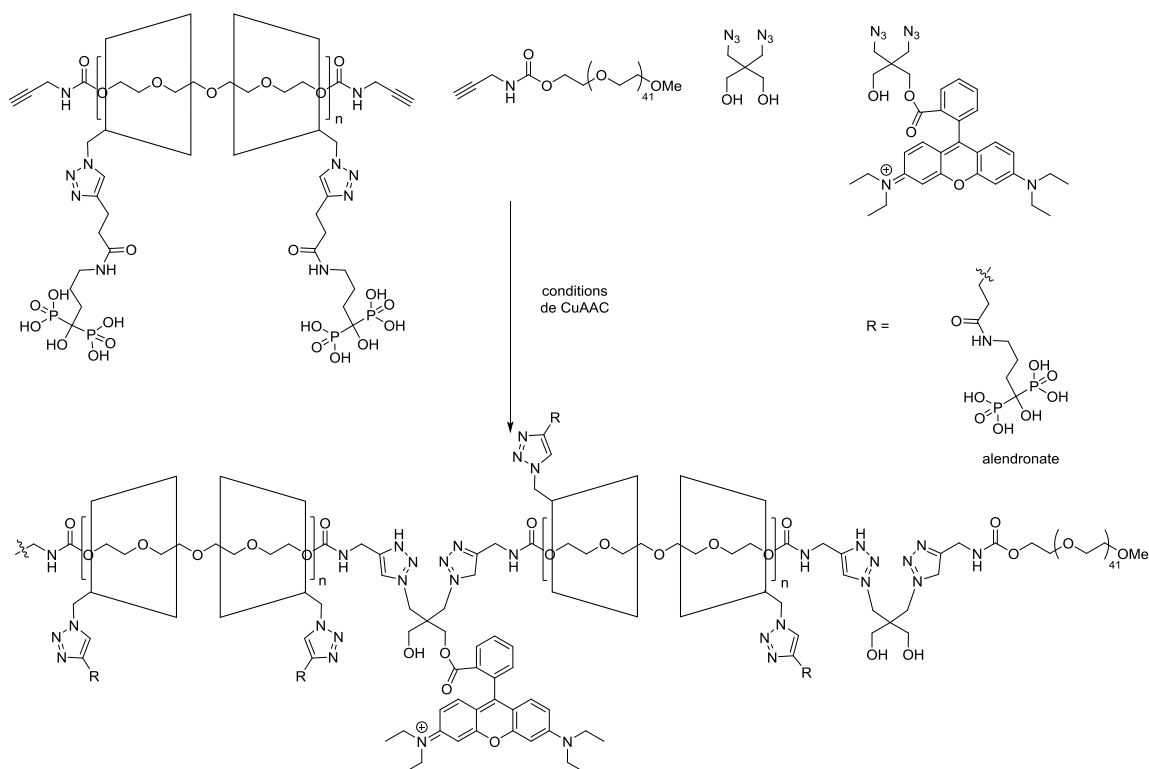


Figure 34 : Synthèse d'un polyrotaxane multiblock par CuAAC^[51]

La fonctionnalisation des CDs par un agent de ciblage ou un principe actif est donc l'application qui est la plus décrite dans la littérature.^[56] Souvent les cyclodextrines sont fonctionnalisées par des petites fonctions comme des sucres et les azotures.

III. Polyrotaxanes pour l'imagerie bimodale

Dans l'équipe Chimie Supramoléculaire de l'IPCM, une nouvelle thématique a été développée avec le début de cette thèse autour de l'élaboration de polyrotaxanes de cyclodextrines pour l'imagerie bimodale. Au cours de cette introduction bibliographique nous avons montré que l'imagerie bimodale qui combine l'imagerie optique de fluorescence et l'IRM est un domaine qui est encore à explorer. Dans cette thèse nous souhaitons élaborer un nouveau type d'agent bimodal par une approche supramoléculaire utilisant une architecture de type polyrotaxane. Ce polyrotaxane sera composé d' α -cyclodextrines qui seront mono- ou difonctionnalisées sélectivement, soit par des agents de contrastes pour l'IRM soit par des sondes fluorescentes (Figure 35). Ces CDs fonctionnalisées seront ensuite enfilées sur un polymère pour obtenir l'objet désiré. Cette approche supramoléculaire présente plusieurs avantages dont la combinaison ne se retrouve pas dans les systèmes existants de type nanoparticules ou polymères :

- La flexibilité : les synthèses et les propriétés de l'agent de contraste pour l'IRM et des sondes fluorescentes peuvent être optimisées indépendamment.
- La modularité : les proportions et le choix des sondes peuvent facilement être changés.
- La biocompatibilité : le choix de la CD comme plateforme pour les fonctionnalités autorise une potentielle application sur le vivant.
- La biodégradabilité : la présence de bouchons clivables peut par la suite permettre une élimination plus facile pour une éventuelle application *in vivo*.

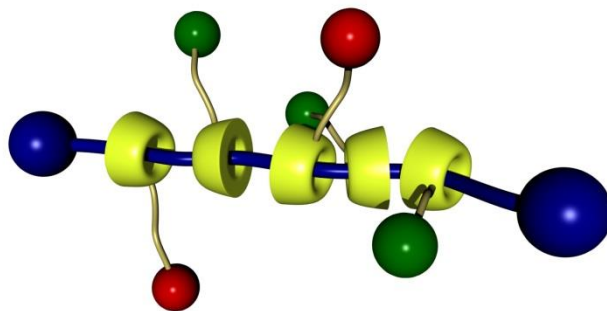


Figure 35 : Représentation schématique d'un polyrotaxane pour l'imagerie bimodale

Afin de pouvoir réaliser la synthèse de ce système plusieurs étapes doivent être franchies. Dans un premier temps, le développement d'une voie de synthèse modulaire et robuste des CDs fonctionnalisées soit par des sondes fluorescentes ou un agent de contraste pour l'IRM doit être mis en place. Ces CDs devront posséder plusieurs propriétés comme une solubilité dans l'eau, une conservation ou amélioration des propriétés optiques pour les sondes fluorescentes et des propriétés de relaxivité pour les agents de contraste pour l'IRM. Deux exemples de CDs cibles sont présentés sur la Figure 36.

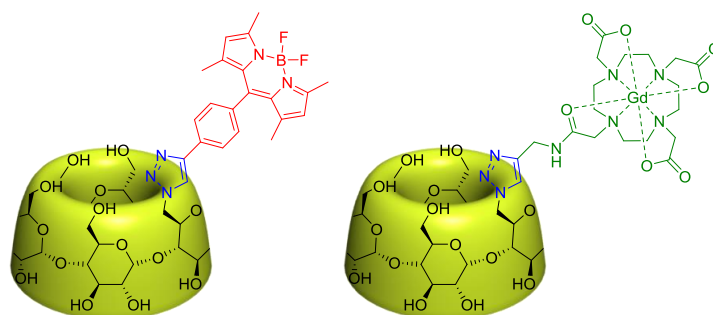


Figure 36 : Exemples de CDs fonctionnalisées

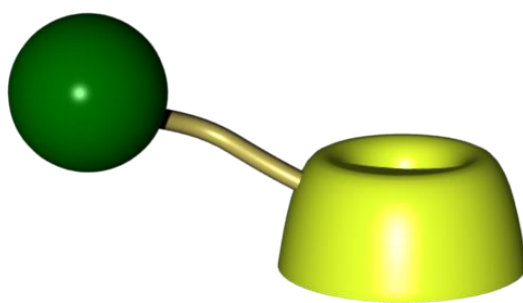
Une fois ces briques en main, nous devons nous intéresser aux propriétés de ces CDs fonctionnalisées en tant qu'hôte. Afin de choisir un axe optimal pour le polyrotaxane, l'étude de systèmes modèles de type pseudorotaxane ou rotaxanes devra être réalisée. Ainsi, l'affinité entre des monomères (précurseur du polymère qui servira à la synthèse du PR) et les CDs sera déterminée. L'obtention des données cinétiques et thermodynamiques de l'inclusion devrait permettre de comparer les CDs entre elles et éventuellement prévoir leur comportement vis-à-vis du polymère.

Enfin ayant toutes ces informations en main, la synthèse de polyrotaxanes pour l'imagerie bimodale pourra être envisagée. Des conditions d'enfilage compatibles avec les cyclodextrines fonctionnalisées et de purification devront être trouvées et optimisées. La caractérisation de ces nouveaux agents bimodaux et l'étude leurs propriétés d'imagerie devront être finalement réalisées.

Ces différents objectifs seront abordés dans les chapitres suivants. La mise au point des synthèses sera développée dans le Chapitre 1 ; les études des systèmes modèles seront abordées dans le Chapitre 2 et enfin l'élaboration des PR pour l'imagerie sera présentée dans le Chapitre 3.

Chapitre 1

Synthèse des cyclodextrines fonctionnalisées



Dans cette partie nous nous intéresserons à la fonctionnalisation de l' α -cyclodextrine par des sondes fluorescentes et un agent de contraste pour l'IRM. Pour cela une approche modulaire est envisagée utilisant une réaction de type « click » (la cycloaddition 1,3-dipolaire catalysée au cuivre ou CuAAC) entre un alcyne et un azoture. La fonction alcyne terminale sera portée par les différentes fonctionnalités (sondes fluorescentes ou complexe pour IRM) et la fonction azoture par la CD.

L'agent de contraste sera basé sur un complexe de gadolinium de type DOTA (acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique) qui est très utilisé dans le domaine de l'imagerie médicale. Différentes sondes fluorescentes seront synthétisées : un dérivé de BODIPY, de cyanine et un complexe photoluminescent à base d'euporium.

I. Synthèse de la cyclodextrine azoture

1. La « chimie click »

a. Concept

La réaction 1,3-dipolaire entre un alcyne vrai et un azoture est la réaction la plus répandue pour les réactions de chimie « click ». La notion de « chimie click » a été introduite en 2001 par K. B. Sharpless.^[57] Ce type de réaction doit satisfaire plusieurs critères comme être modulaire et versatile, donner de très bons rendements, générer des sous-produits inoffensifs qui peuvent être éliminés par des méthodes non chromatographiques, et être stéréospécifique. La mise en œuvre de la réaction doit être simple (peu sensible à l'oxygène et à l'humidité), utiliser des produits facilement disponibles et des solvants peu toxiques comme l'eau.

Plusieurs classes de réactions peuvent être utilisées comme réaction de « chimie click » (Schéma 1.1)^[58] :

- Les cycloadditions d'espèces insaturées comme les 1,3-dipolaires et les réactions de Diels-Alder.
- Les substitutions nucléophiles notamment les ouvertures de cycles tendus comme les époxydes et les aziridines.
- Les réactions sur les carbonyles comme la formation d'hydrazones, d'oximes, d'urées et de thiourées.
- Les réactions d'additions sur les liaisons insaturées C-C comme l'époxydation et la dihydroxylation.

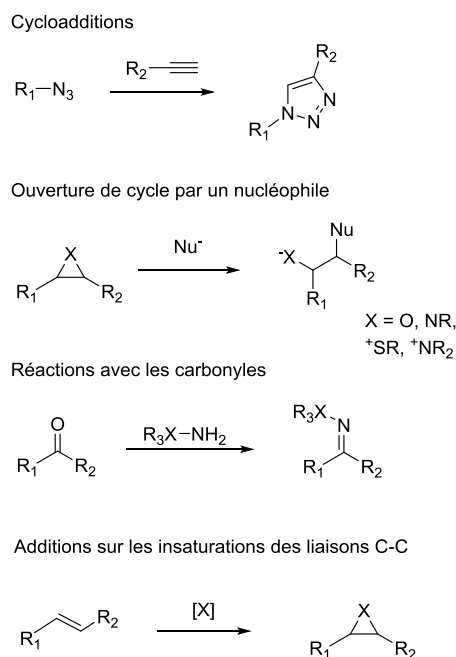


Schéma 1.1 : Exemples de réaction pour la chimie *click*.

La cycloaddition 1,3-dipolaire de Huisgen catalysée au cuivre(I) entre un alcyne et un azoture (CuAAC pour « copper-catalysed azide-alkyne cycloaddition » en anglais) pour former un 1,2,3-triazole est la plus utilisée.

b. Réaction de Huisgen et la réaction catalysée au Cuivre (CuAAC)

La réaction de cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture (Schéma 1.2) a été étudiée au début des années 1960 par R. Huisgen.^[59] Le problème de cette réaction non catalysée est sa haute barrière d'énergie d'activation, ce qui nécessite des hautes températures. De plus la réaction conduit à la formation de deux régioisomères : le 1,4 et le 1,5-triazole.

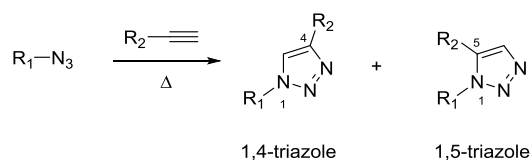


Schéma 1.2: Cycloaddition 1,3-dipolaire entre un alcyne et un azoture

L'introduction du cuivre(I) comme catalyseur de la réaction a permis de former régiosélectivement le 1,4-triazole.^[60, 61] La formation du produit 1,5 peut aussi être orientée en utilisant un complexe de ruthénium.^[62] La réaction catalysée au Cu(I) présente plusieurs avantages comme une vitesse beaucoup plus rapide (jusqu'à 10^7 fois plus que celle non

catalysée) ; des températures plus basses; une gamme de solvants variés (dont l'eau) peut être utilisée.

Plusieurs sources de cuivre(I) peuvent être utilisées comme les sels de cuivre (iodure, bromure, chlorure et acétate) ou des complexes ($[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$). L'espèce Cu(I) peut être générée en partant du cuivre(II) (sulfate de cuivre ou acétate de cuivre) par l'ascorbate de sodium comme réducteur.^[60] Le choix du système catalytique dépend bien évidemment des produits de départ mais aussi du solvant dans lequel la réaction doit être réalisée. En outre, différents ligands (Figure 1.1) peuvent être ajoutés pour optimiser les réactions notamment les amines polydentates qui auront plusieurs rôles. En plus d'aider à la déprotonation de l'alcyne terminal, ces amines empêchent la formation d'espèces non réactives polynucléaires de cuivre, facilitent la coordination des azotures au cuivre et augmentent la solubilité des complexes.

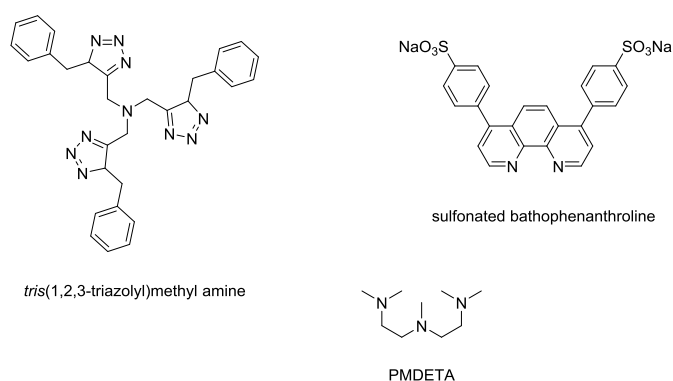


Figure 1.1 : Exemples de ligands pour le cuivre utilisés dans les réactions CuAAC

Un mécanisme proposé pour cette réaction est décrit sur le Schéma 1.3. La première étape est la formation de l'acétylure de cuivre(I) qui est une étape exothermique. L'azoture vient ensuite se coordonner au cuivre. La première liaison C-N est formée dans l'étape suivante avec la formation d'un métalacycle tendu. La formation du triazolure de cuivre s'en suit. Finalement, le produit est éliminé par protonation.

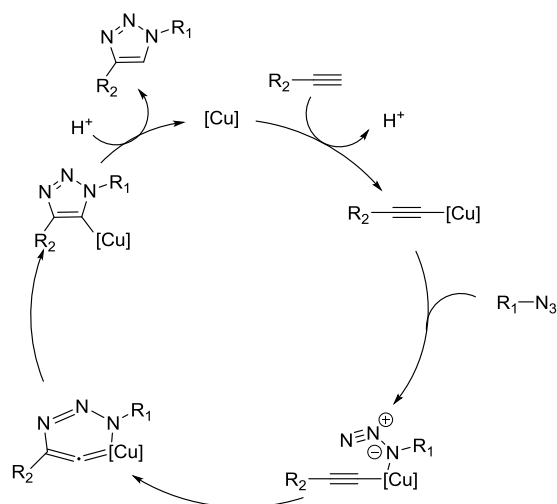


Schéma 1.3 : Premier cycle catalytique supposé de CuAAC^[60]

Cependant récemment, il a été démontré que le mécanisme pourrait passer par une espèce dinucléaire de cuivre^[63].

La CuAAC est une réaction de choix pour l'introduction de fonctionnalités sur la CD.^[64] En général, la fonction azoture est introduite sur la CD. Intéressons-nous maintenant à la fonctionnalisation des CDs.

2. Mono- et di- fonctionnalisation des cyclodextrines

a. Mono-fonctionnalisation

La mono-fonctionnalisation d'un hydroxyle de la couronne primaire se fait en général par une monotosylation.^[65] Les bruts réactionnels sont souvent des mélanges avec des produits de di- et tri-tosylation. Pour avoir le produit de monosubstitution il est nécessaire de faire beaucoup d'étapes de purification. De plus le tosylate peut soit être remplacé par le chlorure libéré lors de la tosylation ; soit former le produit de 3,6-anhydrocyclodextrine (Schéma 1.4). La synthèse de la CD monotosylé est en général menée en présence d'une base (soude dans l'eau ou pyridine pure).

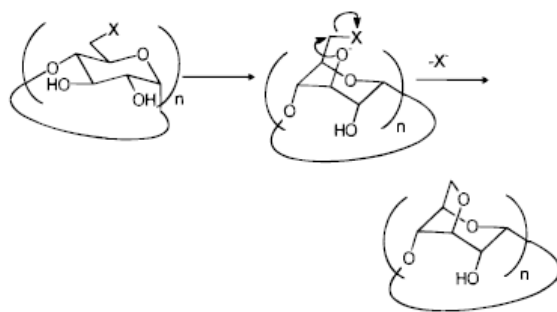


Schéma 1.4 : Formation du produit 3,6-anhydrocyclodextrine

Une substitution nucléophile pour remplacer le tosyle de la CD monotosylé par d'autres fonctions (iodure, azoture, thiol, hydroxylamine, acide carboxylique, amine et polyamine) est ensuite utilisée. Il existe la possibilité d'utiliser des chlorures de sulfonyles encombrés pour limiter la polysubstitution.

Il faut noter qu'une fonction aldéhyde peut aussi être introduite sur la couronne primaire avec une réaction de Dess-Martin. Cet aldéhyde peut être obtenu également en passant par le tosyle^[66] en présence de DMSO (Schéma 1.5).

Pour la synthèse du monoazoture de CD la réaction se fait avec le produit de tosylation et du NaN_3 dans le DMF. L'introduction directe d'une fonction azoture sur la CD est également possible^[67] en utilisant un mélange de LiN_3 , triphénylphosphine dans du tétrabromure de carbone. Le problème de cette méthode est la formation d'un mélange de di-, mono- et triazoture sur la CD. De plus la méthode est peu régiosélective pour la formation des di- et triazoture. En effet sur la couronne primaire les N_3 seront soit en position 1-2, 1-3 et 1-4 l'une par rapport à l'autre.

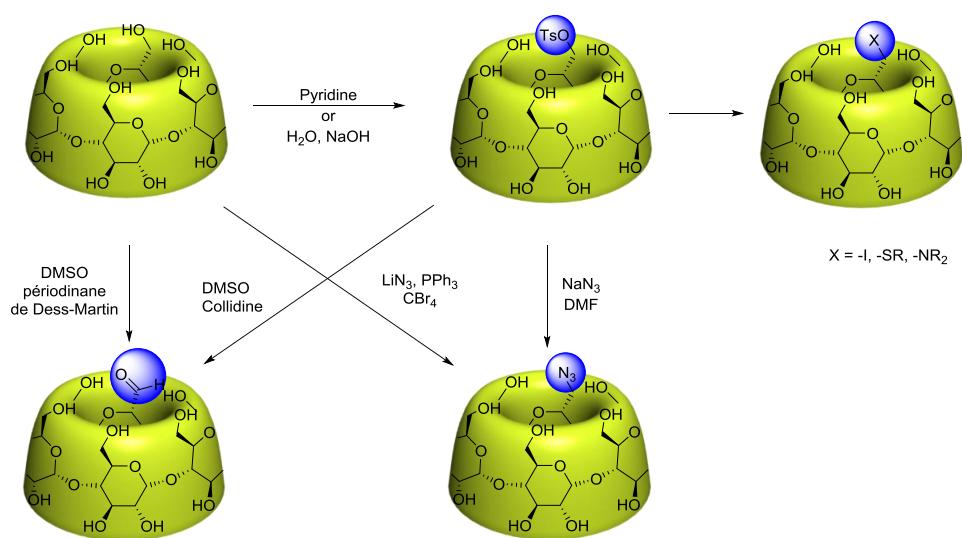


Schéma 1.5 : Mono-fonctionnalisation de l'α-CD

b. Di-fonctionnalisation

Pour la di-fonctionnalisation, l'introduction de deux équivalents de réactifs (comme le chlorure de tosyle) peut donner le produit. Mais le problème reste le même que pour la monotosylation avec une purification encore plus laborieuse. En effet, la possibilité de former des régioisomères accentue ces difficultés de purification. Il est possible d'utiliser aussi des chlorures de sulfonyles encombrés comme le chlorure de mésitylène sulfonyl^[68], naphthyle

sulfonyl^[69] voire un trityle. Mais l'utilisation de ces méthodes conduit souvent à des rendements faibles.

Une méthode qui semble intéressante pour orienter la régiosélectivité est l'utilisation des chlorures de diaryles sulfonyles (Schéma 1.6). La plupart des systèmes ont été décrits pour la β -CD. L'utilisation de dibenzofurane-2,8-disulfonyl permet la di-fonctionnalisation en position 1-3.^[65] Il est aussi possible d'utiliser le chlorure 2,6-diméthoxybenzène-1,3-disulfonyl pour orienter la réaction en position 1 et 2.^[70] En 2005, D. Armspach utilise le 1,3-bis(bis(4-tert-butylphényl)chlorométhyle)benzène pour avoir l'isomère 1,2 avec des rendements supérieurs à 50%.^[71]

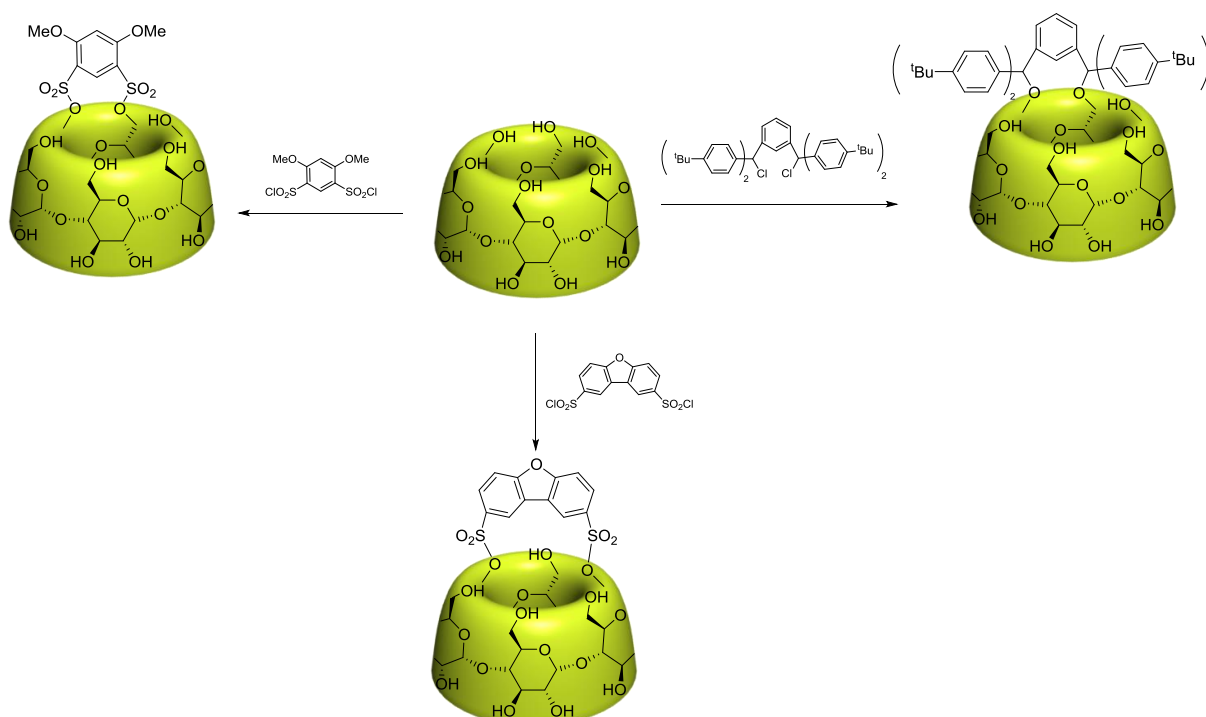


Schéma 1.6: Di-fonctionnalisation de l' α -CD

Les stratégies de fonctionnalisation directe des CDs sont courtes et permettent un accès rapide mais elles sont difficilement reproductibles et répétables. De plus, les rendements sont en général faibles. L'obtention de CDs di-fonctionnalisées de façon sélective reste assez difficile surtout à cause de la quantité de régioisomères qui peuvent se former.

c. Fonctionnalisation des CDs par protection-déprotection sélective

Une autre approche pour avoir accès aux CD mono- ou di-fonctionnalisées est l'utilisation des méthodes de protection et de déprotection sélectives. Une méthodologie de

synthèse a été mise en place par M. Sollogoub.^[72] Elle consiste dans un premier temps en la protection de toutes les fonctions hydroxyles par des groupements benzyles. Ensuite par réaction avec le DIBAL-H, une première déprotection se fait sur un groupe hydroxyle de la couronne primaire. Cette première déprotection est suivie d'une autre sur un groupe qui se trouve en position 1-4 sur cette même couronne (Schéma 1.7).

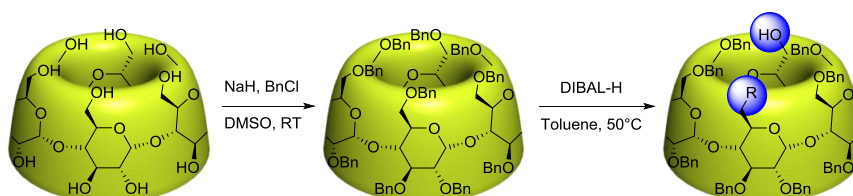


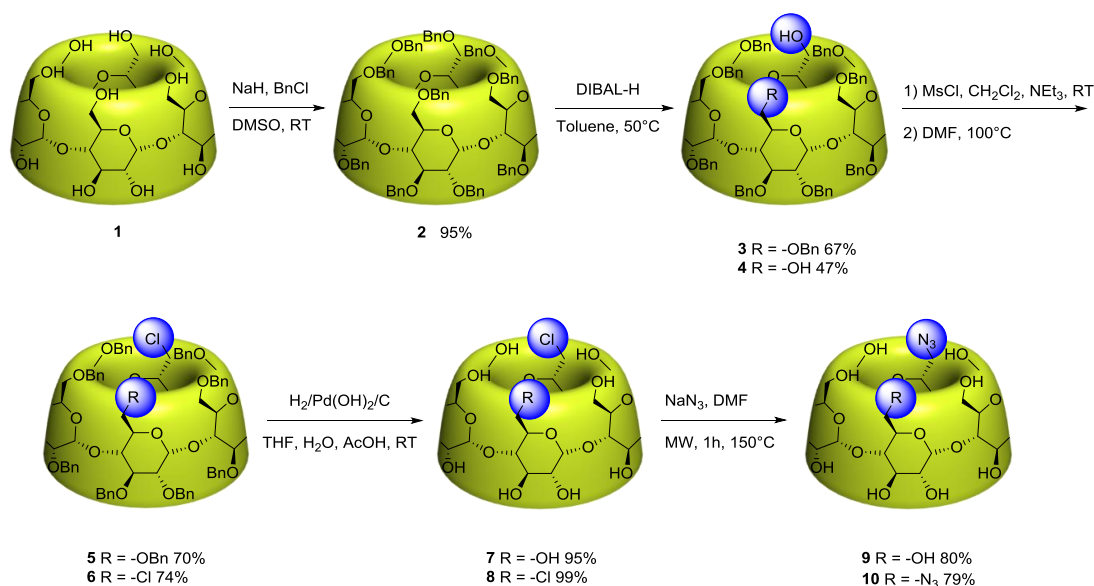
Schéma 1.7 : Perbenzylation et déprotection sélective de la CD
(R = OBn ou OH selon les conditions)

La première débenzylation fait intervenir deux molécules de DIBAL-H qui sont coordonnées à une unité glucopyranose. Ensuite à cause de l'encombrement stérique la deuxième réaction a lieu en position 4 par rapport à la première unité ayant déjà subi la réaction.^[72]

3. Synthèse de la CDN_3 et de la $CD(N_3)_2$

Nous avons choisi d'utiliser cette méthodologie pour synthétiser de manière sélective **9** et **10** dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe de M. Sollogoub de l'IPCM. La synthèse de la CDN_3 **9** et de la $CD(N_3)_2$ **10** se font dans une séquence réactionnelle de cinq étapes (Schéma 1.8). L' α -CD native **1** est perbenzylée en présence d'hydruide de sodium pour déprotéger les fonctions hydroxyles qui ensuite réagissent sur le chlorure de benzyle dans le DMSO pour donner la CD-perbenzylée **2**. Ensuite, la CD-perbenzylée **2** est mise en réaction avec le DIBAL-H afin de déprotéger sélectivement un ou deux hydroxyles de la couronne primaire dans le toluène à 50°C pour donner la CD-monol **3** ou la CD-diols **4**. Les composés **3** et **4** en présence de chlorure de mésyle dans le dichlorométhane et la triéthylamine vont donner les produits mésylés qui ne sont pas isolés. Le chlorure qui est libéré lors de la mésylation va ensuite substituer la fonction mésyle pour donner la CD-mono-Cl benzylé **5** et la CD-di-Cl benzylé **6**. Les CDs **5** et **6** sont déprotégées via une hydrogénation catalytique avec $Pd(OH)_2$ dans un mélange THF, acide acétique, eau à température ambiante pour donner les produits chlorés **7** et **8**. Les CD chlorés dans du DMF sec réagissent avec l'azoture de

sodium sous irradiation micro-ondes pour donner les produits **9** et **10**. Le rendement global de la synthèse est respectivement de 33 et 25%.



La synthèse des différentes sondes photoluminescentes se fera à partir de la CDN_3 **9** et pour l'agent de contraste d'IRM la synthèse sera faite sur les deux **9** et **10**.

II. Synthèse de CDs fonctionnalisées par un complexe pour l'IRM

1. Généralités

Pour obtenir l'agent de contraste pour l'IRM nous proposons de synthétiser un dérivé de l'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique (DOTA) (Figure 1.2). Le DOTA fait partie des ligands macrocycliques qui ont, par rapport aux ligands acycliques, une plus grande inertie et plus grande stabilité thermodynamique, ce qui évite ainsi la libération de Gd(III) dans l'organisme et l'échange avec le calcium et le zinc notamment.

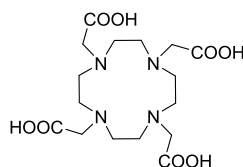


Figure 1.2 : ligand DOTA

Le DOTA est un ligand qui est utilisé dans plusieurs techniques d'imagerie en fonction du métal chélaté par celui-ci. (le Gd pour l'IRM, l'Europium et le terbium pour la luminescence, le cuivre et le gallium pour la PET, l'indium et l'ytterbium pour la SPECT).^[73]

Le DOTA a été synthétisé pour la première fois par Stetter et Franck en 1976.^[74] Plusieurs voies de synthèses existent pour préparer des dérivés du DOTA.^[75] La plus connue et utilisée est décrite sur le Schéma 1.9.

La première étape est l'introduction d'un acide carboxylique protégé par un groupement benzyle et sur les trois autres amines des fonctions acides protégées par des *tertio*-butyles. Ensuite une hydrogénation catalytique permet d'enlever le benzyle et d'introduire une fonction ester ou amine avec un couplage peptidique suivi d'une déprotection en milieu acide. Les DOTA activés par le succinimide ou le tétrafluorobenzène du Schéma 1.9 sont commerciaux et sont utilisés pour le couplage avec des peptides.^[76] Ils sont destinés aux couplages en milieu aqueux.

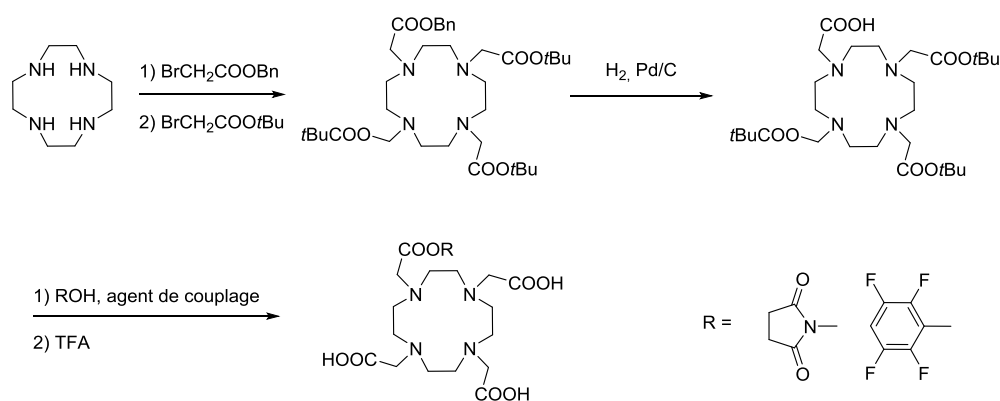


Schéma 1.9 : Synthèse de DOTA activé

En général, pour réaliser le couplage du DOTA avec d'autres molécules, le DOTA-monoamide est synthétisé pour l'introduction de petites fonctions (acide aminé, amine, aldéhyde, alcool, alcyne, azoture) sur le quatrième azote du cycle. Pour cela les deux voies du Schéma 1.10 sont les plus utilisées.

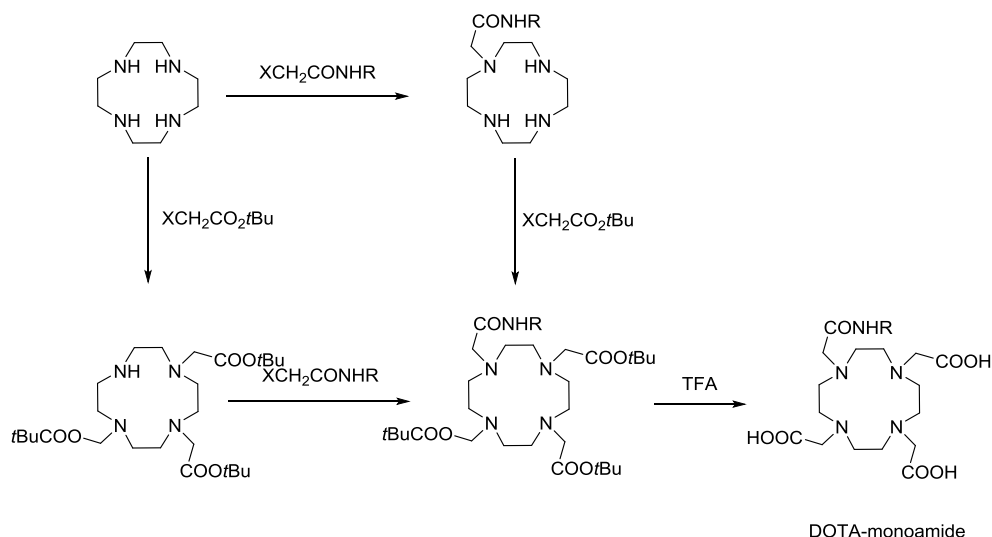


Schéma 1.10 : synthèse du DOTA-monoamide

Les fonctions azotures et alcynes peuvent être introduites pour pouvoir ensuite réaliser des réactions click.^[77] C'est cette stratégie qui est envisagée dans notre cas. Une fonction alcyne sera introduite sur le cycle qui permettra de réaliser la réaction click du complexe sur la CD (Figure 1.3). Le complexe du lanthane sera aussi préparé pour avoir accès aux études RMN. En effet le Gd étant paramagnétique les signaux seront éclatés en RMN. De plus les CDs fonctionnalisées par les complexes de La serviront de références pour calculer la quantité de Gd qui sera enfilée sur les polymères dans le cadre des polyrotaxanes.

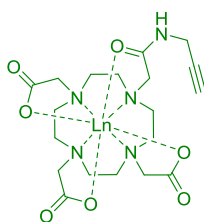


Figure 1.3 : Complexe DOTA de lanthanide portant une fonction alcyne

2. Synthèse de l'agent de contraste

La synthèse de complexes pour l'IRM (Schéma 1.11) commence donc avec le cyclon **11** qui réagit avec le bromoacétate de *tertiobutyle* dans le DMAc en présence d'acétate de sodium pour donner le cyclon trisubstitué **12** avec un rendement de 67%. Ce composé précipite sélectivement dans le DMAc. Ensuite la fonction alcyne est introduite par la réaction de **12** avec le dérivé bromé **17** dans le dichlorométhane et de la triéthylamine pour donner le cyclon tétrasubstitué **13** avec un rendement de 95%. Les *tertio*-butyles sont enlevés par

réaction avec le TFA dans le chloroforme. Le ligand **14** est ensuite complexé soit avec du La(III) ou du Gd(III) dans l'eau à pH 6-7 pour donner les complexes **15** et **16**.

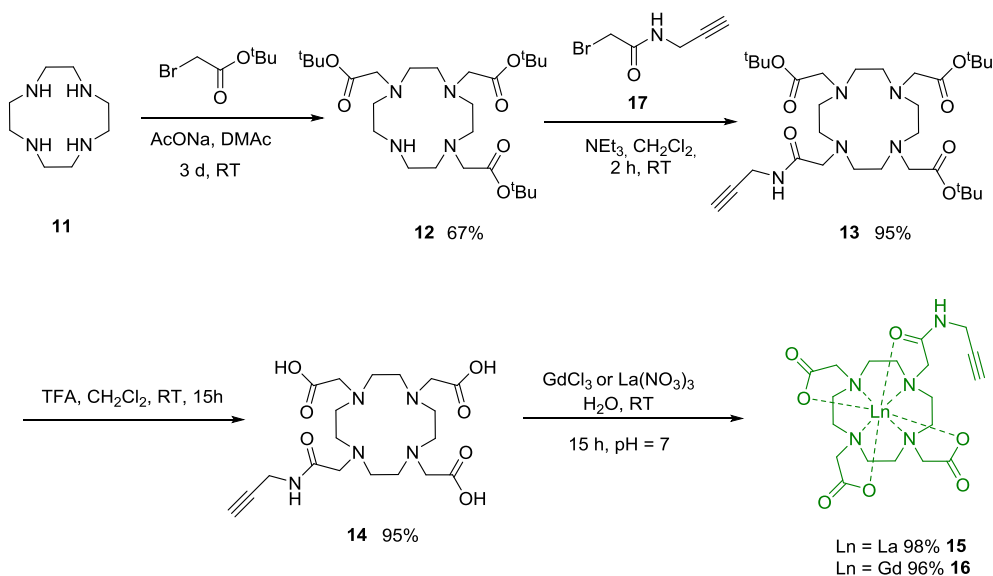


Schéma 1.11 : Synthèse des complexes DOTA-Ln

Les complexes **15** et **16** obtenus peuvent alors être clickés en présence d'ascorbate de sodium, de sulfate de cuivre, de PMDETA dans un mélange eau et DMF sur les composés CDN_3 et $\text{CD}(\text{N}_3)_2$ pour obtenir les produits **18** à **21** après purification sur colonne avec des rendements autour de 70% (Schéma 1.12).

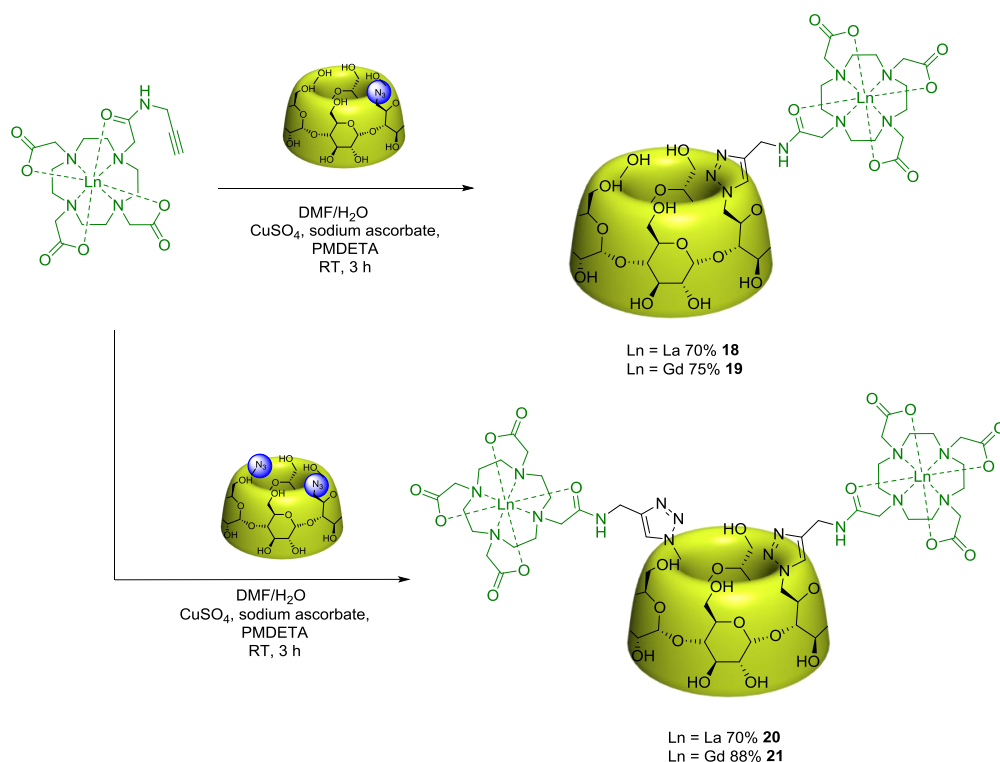


Schéma 1.12 : Synthèse des CD fonctionnalisées pour l'IRM (CDLn et CDLn₂)

3. Relaxivité des agents de contraste

Les propriétés de relaxivité des CDs fonctionnalisées ont été menées en réalisant un profil NMRD.

Cette méthode consiste en la mesure du temps de relaxation T_1 de l'eau en fonction du champ magnétique. Ce profil est aussi appelé profil de dispersion de relaxation magnétique nucléaire ou profil NMRD pour « Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion » en anglais.

Les profils NMRD ont été tracés à 25°C et 37°C pour la CDGd mono-fonctionnalisée et à 25, 37 et 50°C pour la CDGd₂ di-fonctionnalisée et sont présentés sur la Figure 1.4.

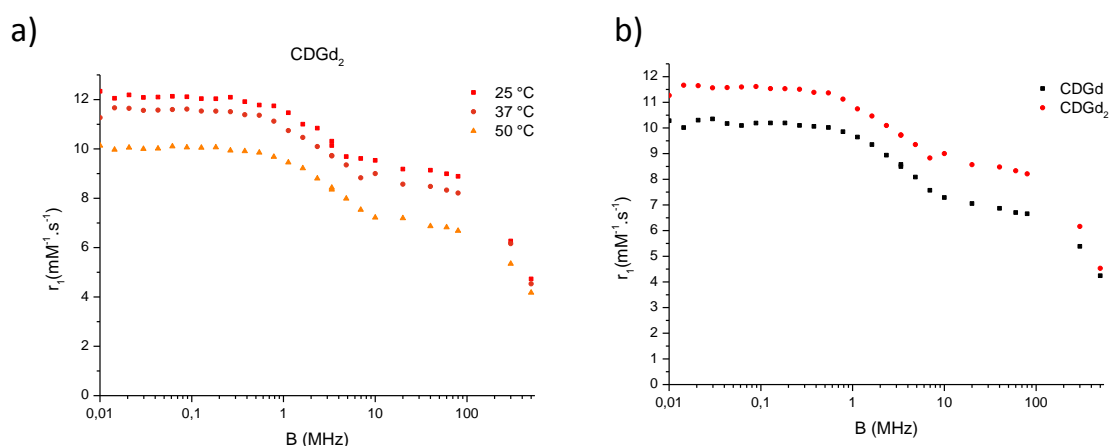


Figure 1.4 : Profil NMRD de a) CDGd₂ à 25, 37 et 50°C de b) CDGd et CDGd₂ à 37°C

Les CDs présentent une relaxivité plus importante que les complexes commerciaux tels que le DOTA et le DTPA (Tableau 1.1) à hauts champs. Les CDGd et CDGd₂ comparées aux complexes de Gd seuls sont plus rigides et tournent moins vite en solution et de ce fait la relaxivité est plus importante (temps de corrélation rotationnel plus grand). Ce phénomène s'observe aussi entre les deux CDs. En effet la CD di-fonctionnalisée, qui est plus volumineuse, possède une relaxivité plus importante que celle mono-fonctionnalisée.

Tableau 1.1: Relaxivité de deux complexes commerciaux et des CDGd_n à 20 MHz à 25°C

	Gd-DTPA	Gd-DOTA	CDGd	CDGd ₂
r_1 (mM ⁻¹ .s ⁻¹)	4,3	4,2	7,9	9,2

Pour les deux composés CDGd et CDGd₂, la relaxivité diminue quand la température augmente. Cette évolution peut être due à l'augmentation de la vitesse de rotation de la molécule (diminution du temps de corrélation rotationnel).

Le comportement des deux cyclodextrines suit ce qui est attendu. La rigidité et la taille de la CD apportent un gain de relaxivité par rapport aux complexes commerciaux. Ces résultats

sont de bon augure pour l'incorporation de ces CD dans un agent bimodal. De plus elles ont un comportement de petits complexes de Gd en solution puisque la baisse de relaxivité est observée lors de l'augmentation de la température.

III. Synthèse de CDs fonctionnalisées par des sondes fluorescentes

La synthèse de plusieurs sondes photoluminescentes a été réalisée durant cette thèse. Deux d'entre elles sont des fluorophores organiques de type BODIPY et cyanine et l'autre est un complexe d'euporium. Dans cette partie ces différentes synthèses seront présentées. Ces différentes sondes émettent à des longueurs d'onde complémentaires ce qui permettra de choisir une sonde en fonction du type d'étude envisagée

1. CD BODIPY

a. Généralités

Le 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène (ou BODIPY) est un fluorophore qui est relativement insensible au pH, la polarité du milieu, et est relativement stable dans les conditions physiologiques. Sur la Figure 1.15, on peut voir le motif général d'une BODIPY ainsi que l'appellation générale des positions méso, α , et β . Mais l'un des inconvénients principaux des BODIPY est leur faible solubilité dans l'eau.^[78]

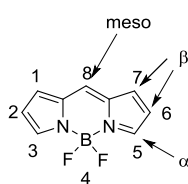


Figure 1.5: Motif BODIPY

La BODIPY a été synthétisée pour la première fois en 1968 par Treibs et Kreuzer.^[79] L'alkylation des positions α et β déplace l'émission des BODIPYs vers le rouge alors que l'arylation ou l'alkylation de la position méso n'a aucun effet notable. Il faut noter que l'alkylation de la position 1 et 7 augmente le rendement quantique quand la position méso est substituée par un aromatique (Figure 1.6).

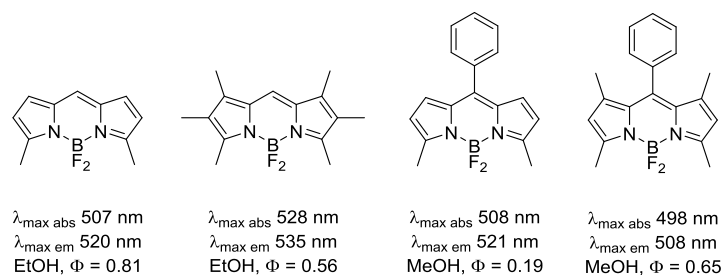


Figure 1.6: Exemples de BODIPY

Les BODIPYs symétriques peuvent être préparées de deux façons :

- Par l'utilisation des pyrroles et de dérivés d'acides (les chlorures d'acides et les anhydrides d'acides) (Schéma 1.13)
- Par l'utilisation des pyrroles et des aldéhydes (Schéma 1.14)

La synthèse avec les chlorures d'acides se décompose en deux étapes. La première est la condensation du pyrrole sur le dérivé chloré pour former un sel de dipyrrométhène. Celui-ci est mis en réaction avec une base (en général une amine) et $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ pour former le produit désiré.^[80]

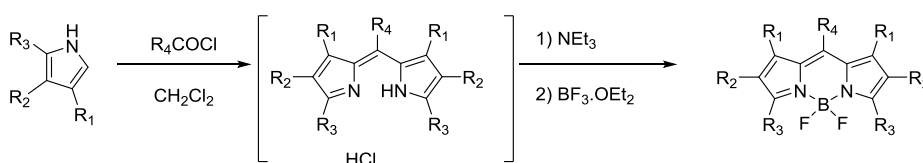


Schéma 1.13 : Synthèse d'une BODIPY à partir d'un chlorure d'acide

La synthèse avec un aldéhyde comprend trois étapes. La première est la condensation du pyrrole sur l'aldéhyde en présence d'un acide en quantité catalytique (souvent l'acide trifluoroacétique) pour former un dérivé de dipyrrométhane. Ce dernier doit subir une oxydation avec le *p*-chloranil ou la 2,3-Dichloro-5,6-DicyanobenzoQuinone (DDQ) pour donner le dipyrrométhène suivi de la réaction avec une base et $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ pour donner la BODIPY. En général des aldéhydes aromatiques sont utilisés.

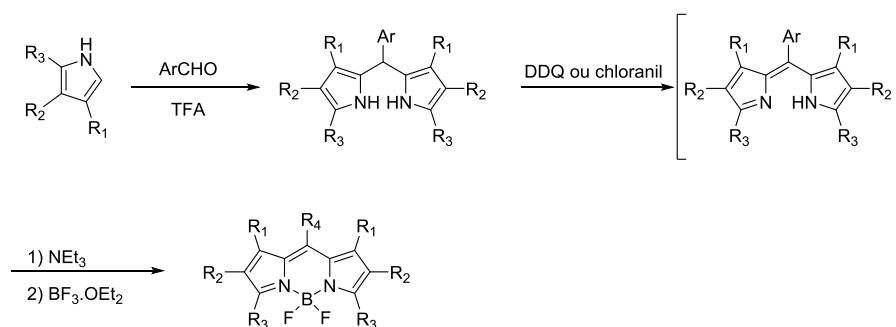


Schéma 1.14 : synthèse d'une BODIPY à partir d'un aldéhyde

Pour faire des BODIPYs asymétriques il est nécessaire d'utiliser des cétopyrroles et de les condenser avec un pyrrole en présence d'un acide.

Les plateformes BODIPYs, une fois qu'elles ont été synthétisées, peuvent subir différentes modifications (Schéma 1.15). Chaque position possède une réactivité qui lui est propre.^[81] Les positions β peuvent subir l'attaque d'électrophiles notamment des halogénations avec une source de brome ou d'iode ou une sulfonation. Le fait de substituer ces positions par des halogènes ouvre la voie à la fonctionnalisation avec des couplages carbone-carbone de type Sonogashira.

De plus si des BODIPYs portent des groupements méthyles en position 3 et 5, il y a la possibilité de faire réagir ces derniers. Les méthyles peuvent être déprotonés par une base. L'intermédiaire pourra ensuite réagir sur un aldéhyde pour générer des groupements styryles.^[82]

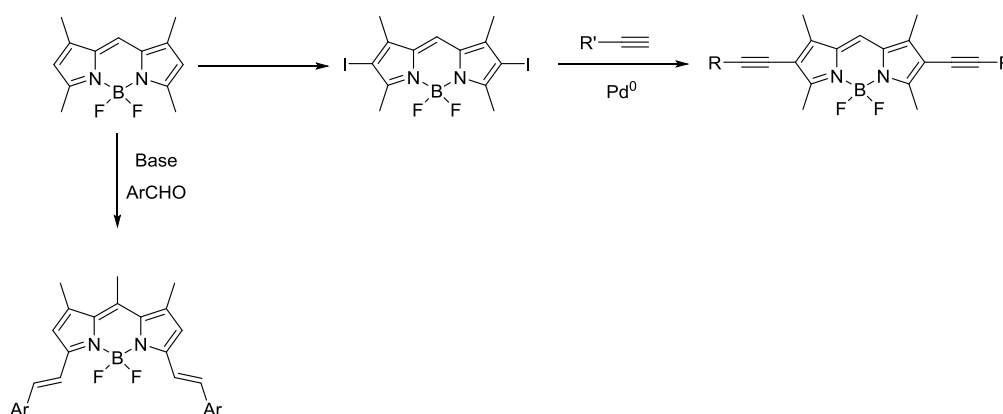


Schéma 1.15 : Exemple de post-fonctionnalisation de la plateforme BODIPY

Les fluorures portés par le bore peuvent également subir des réactions. Ils peuvent être substitués par des groupements alcoxyde, alcyne, alkyle ou aryle en utilisant respectivement des alcoolates, des organomagnésiens ou des organolithiens (Schéma 1.16).^[78]

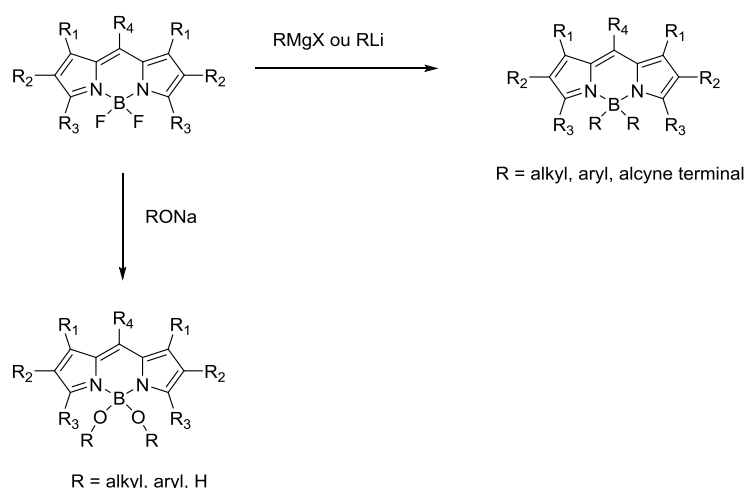
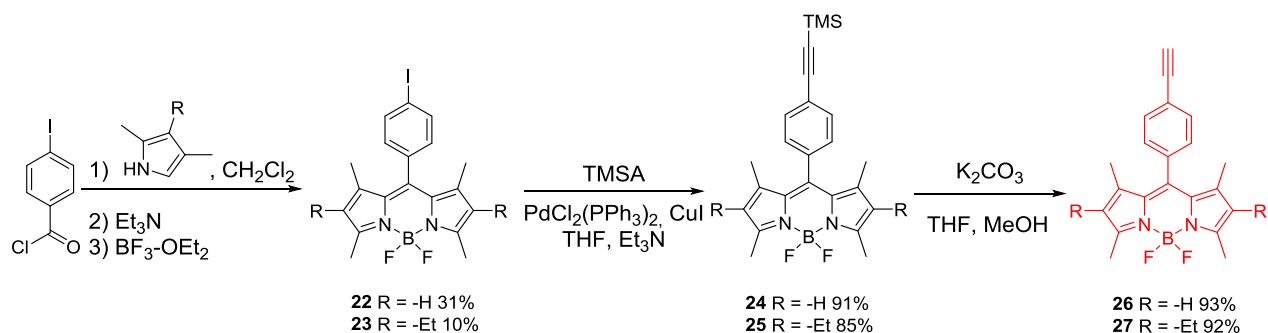


Schéma 1.16: Substitution des fluorures de la BODIPY

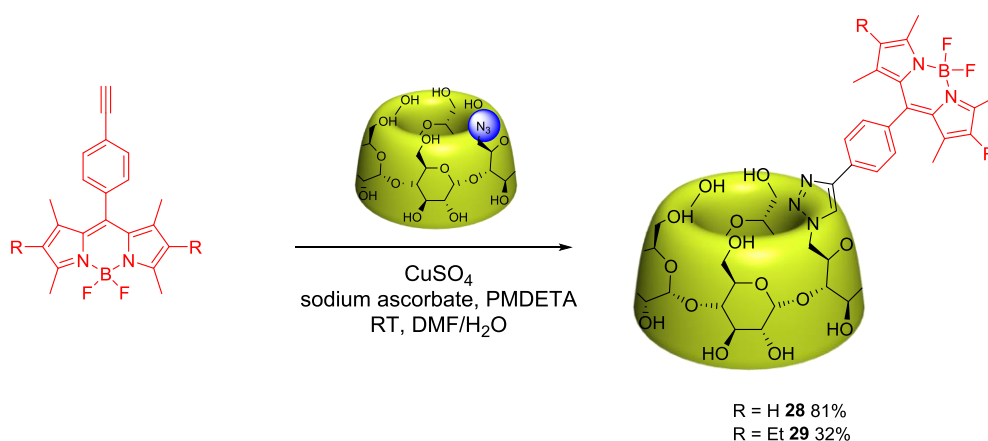
Il existe une multitude de sondes BODIPYs dont les propriétés varient en fonction de différents stimuli (sonde à pH, sonde pour différents cations). Elles peuvent aussi être utilisées pour leurs propriétés en optoélectronique.^[78]

b. Synthèse

La stratégie qui a été adoptée pour la synthèse de nos dérivés BODIPYs est l'utilisation des chlorures d'acides car ils sont bien décrits dans la littérature.^[83] Le chlorure de l'acide para-iodobenzoïque est condensé avec du 2,4-diméthylpyrrole (ou le 3-éthyl-2,4-diméthylpyrrole) dans du CH_2Cl_2 à 40°C pendant 15 h. Ensuite le NEt_3 et le $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ sont ajoutés au milieu réactionnel pour obtenir les BODIPYs **22** et **23** avec un rendement de 31% et 10%. Le rendement de 31% pour le composé **22** est en accord avec ce qui est décrit. En revanche le faible rendement pour la BODIPY **23** est sûrement dû à l'utilisation d'une vieille bouteille de 3-éthyl-2,4-diméthylpyrrole. Les composés **22** et **23** sont transformés via un couplage de Sonogashira avec le TMSA en présence de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$, de l'iodure de cuivre dans le THF et la triéthylamine pour avoir les BODIPYs protégées **24** et **25**. Ces derniers ainsi obtenus sont déprotégés avec du K_2CO_3 dans un mélange méthanol et THF afin d'obtenir les dérivés alcynes terminaux **26** et **27** (Schéma 1.17).


 Schéma 1.17 : synthèse des BODIPYs **26** et **27**^[84]

Ensuite les composés **26** et **27** sont couplés à la CDN_3 en présence de sulfate de cuivre, d'ascorbate de sodium, la PMDETA dans un mélange DMF, eau pour obtenir la CD-Bod1 **28** et CD-Bod2 **29** avec des rendements respectifs de 81% et 32% (Schéma 1.18). Le faible rendement avec la BODIPY **27** peut être expliqué par la faible solubilité de cette dernière dans le mélange de solvant eau et DMF.


 Schéma 1.18 : Couplage des BODIPYs avec la CDN_3

Les positions β de la BODIPY, si elles ne sont pas substituées, restent des positions réactives, ce qui peut donc entraîner une instabilité de ces molécules. La substitution des protons de ces deux positions β par des groupements alkyles aura tendance à rendre la BODIPY moins réactives (donc plus stable). C'est pour cela que le composé **29** a été synthétisé.

Malheureusement des problèmes de solubilité dans l'eau sont apparus avec ces CD-Bod. Dans le DMSO tous les signaux de la CD-Bod1 sont bien résolus. Bien que soluble dans l'eau, la RMN 1H de la CD-Bod1 dans D_2O à 300 K ne montre pas de signal correspondant à la fonction BODIPY, ni pour les aromatiques ni les méthyles. De plus les signaux

correspondant à la CD sont très larges. En augmentant la température les signaux s'affinent et ceux correspondant à la BODIPY apparaissent (Figure 1.7). Ce phénomène laisse supposer que des agrégats se forment à 300 K et se dissocient à plus haute température. En effet, la partie BODIPY est hydrophobe et peut s'agréger entre elle ou s'insérer partiellement dans la cavité de la CD. En outre la CD-Bod2 est complètement insoluble dans l'eau (précipitation). L'ajout d'un solvant comme l'acétonitrile ou le méthanol à hauteur de 10 à 20% permet la solubilisation de cette CD-Bod2.

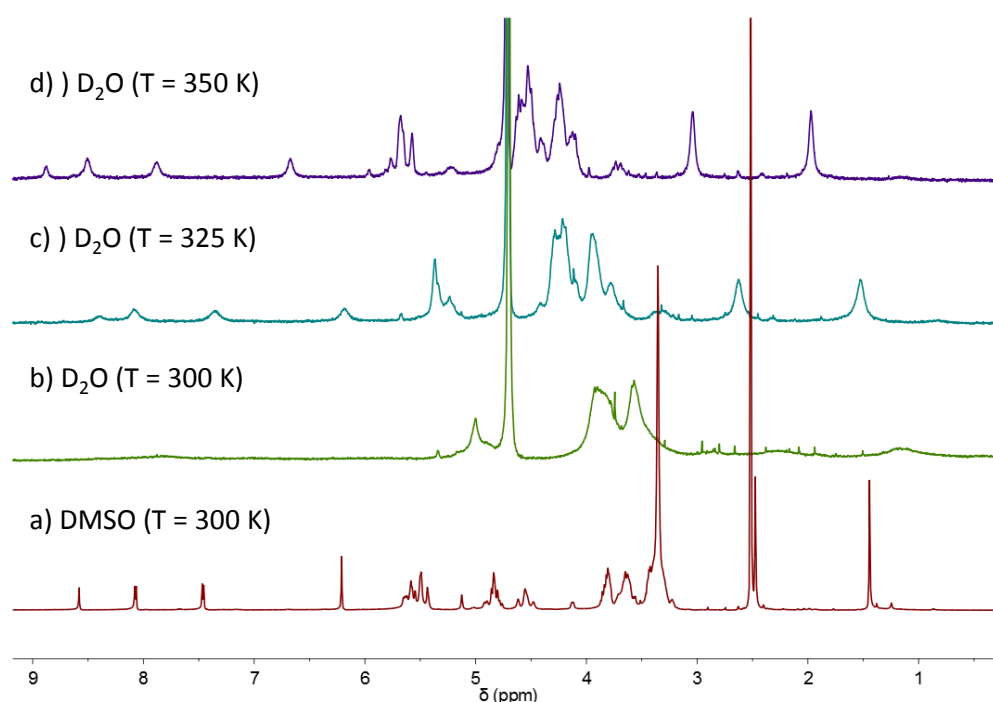
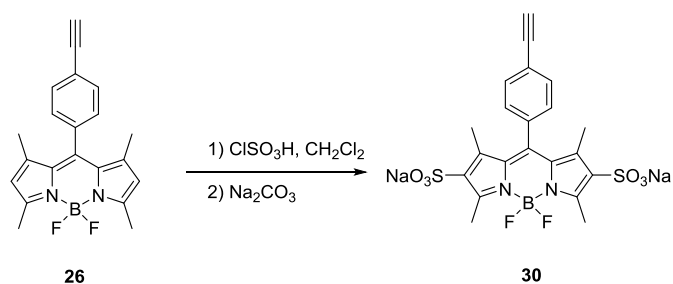


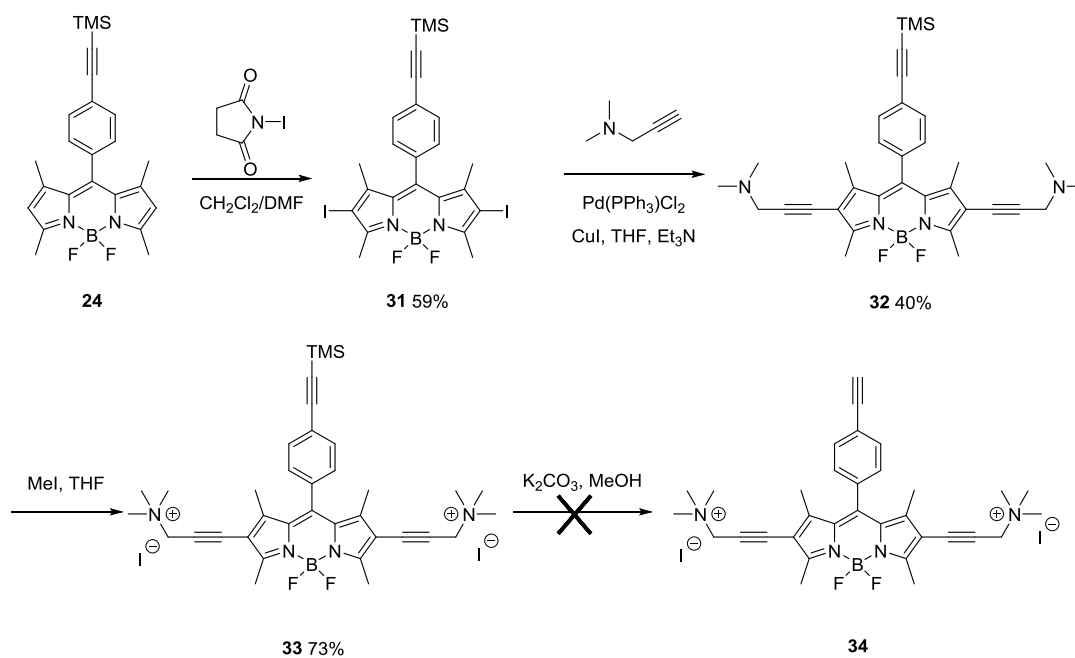
Figure 1.7 : Spectre RMN ^1H de la CD-BOD-1 a) dans DMSO et b), c), d dans) D_2O à 300, 325 et 350 K

Pour ces raisons de solubilité, l'introduction de groupements hydrosolubles sur la BODIPY sur les positions β a été envisagée. L'introduction de groupements cationiques ammonium et anioniques sulfonate ont fait partie des options (Schéma 1.20 et Schéma 1.19).

Dans un premier temps des sulfonates ont été introduits par réaction entre la BODIPY **26** et l'acide chlorosulfonique. Le brut réactionnel est complexe. La présence du composé **30** est confirmée par spectrométrie de masse ; mais les difficultés de purification et le faible rendement de la réaction nous ont conduits à abandonner cette voie.

**Schéma 1.19** : Synthèse de BODIPY sulfonate

Ensuite, l'introduction d'ammonium a été planifiée. Les positions β de la BODIPY **24** sont iodées en les faisant réagir avec le N-iodosuccinimide comme source d'iode dans un mélange CH_2Cl_2 et DMF. Le composé iodé **31** obtenu avec un rendement de 60% est ensuite couplé au 3,3-diméthylaminopropyne par une réaction de Sonogashira. Les amines de la BODIPY **32** sont méthylées par l'iodométhane dans le THF. La déprotection du composé **33** n'a pu être réalisée. Plusieurs conditions de déprotection (différents solvants, chauffage) ont été tentées mais l'absence de réaction ou la dégradation du produit de départ ont été observés.

**Schéma 1.20** : Synthèse de BODIPYs ammonium et sulfonate

L'introduction d'un groupement triéthylèneglycol a alors été réalisée dans le cadre du stage d'Elodie Morel. Pour cela un triéthylèneglycol fonctionnalisé par un alcyne **36** vrai a été synthétisé (Schéma 1.21). Le triéthylèneglycol **35** est mis en présence d'hydruure de sodium et du bromure de propargyle dans l'acétonitrile pour obtenir l'alcyne **36** avec un rendement de 90%.

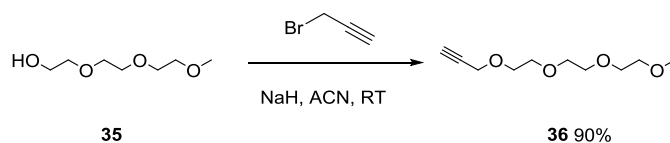


Schéma 1.21 : Synthèse du bras glycol pour la BODIPY

Le composé iodé **31** obtenu auparavant est ensuite couplé à l'alcyne **36** par une réaction de Sonogashira. La BODIPY **37** est déprotégée et couplée avec la CDN₃ pour obtenir la CD-Bod-PEG **39** (Schéma 1.22).

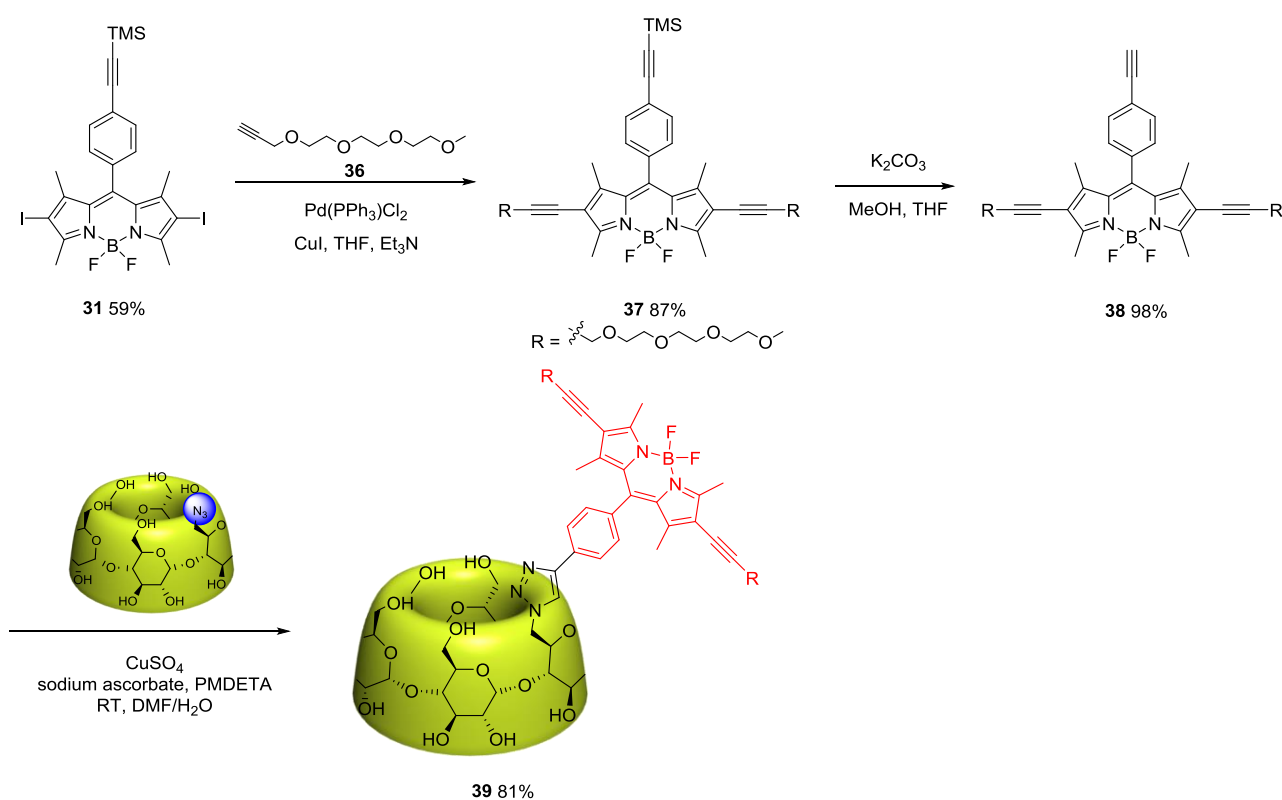


Schéma 1.22 : Synthèse de la BODIPY (CD-Bod-PEG)

La CD-Bod-PEG **39** précipite en milieu aqueux. Des complexes d'inclusion peuvent se former par inclusion des bras PEG dans la cavité de la CD. La synthèse a été quand même réalisée car la constante d'association entre l'éthylène glycol et la cyclodextrine est faible (Chapitre 2). De même que pour la CD-Bod1 et 2 l'ajout de 10% d'acétonitrile ou de méthanol entraîne la solubilisation du précipité.

La synthèse d'une cyclodextrine « bimodale » a été aussi envisagée. Le couplage du complexe de lanthane est réalisé dans une première étape pour donner le composé **40** qui est

mis en réaction avec la BODIPY pour obtenir la cyclodextrine bimodale CD-La-Bod1. (Schéma 1.23) Là encore le composé est très peu soluble dans l'eau.

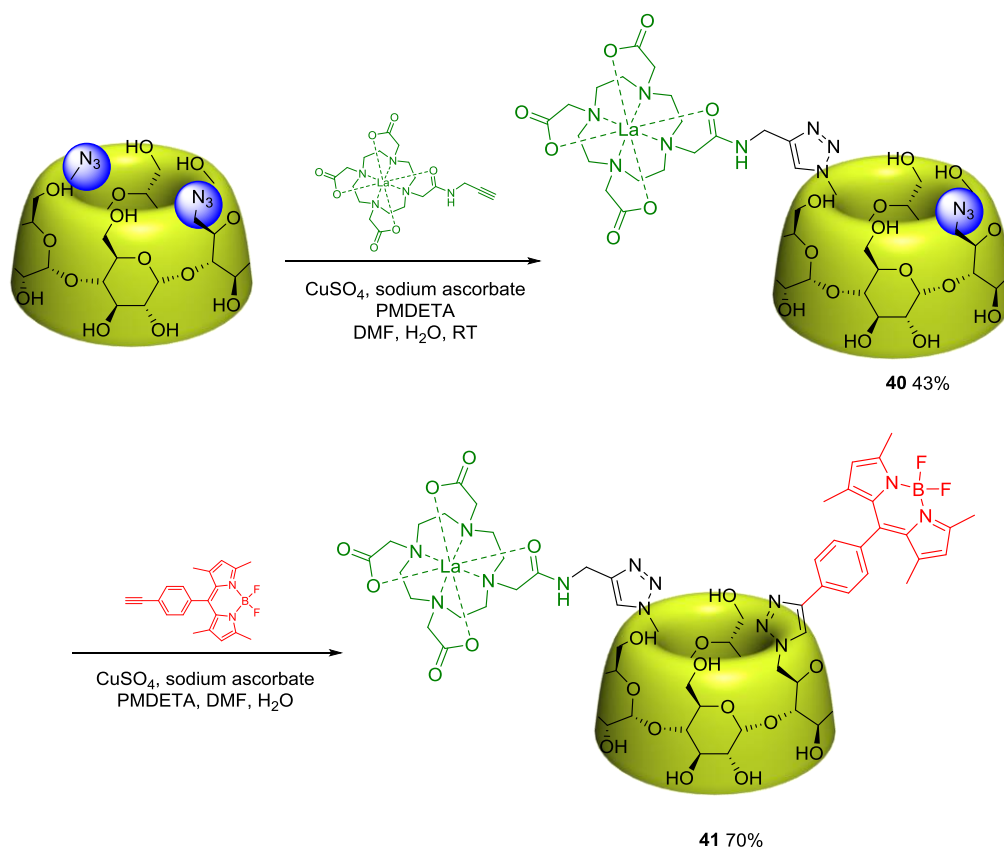


Schéma 1.23 : Synthèse de la CD bimodale

Ainsi trois cyclodextrines BODIPYs différentes ont été synthétisées ainsi qu'une sonde bimodale.

c. Propriétés optiques

Les propriétés d'absorption et d'émission des différentes cyclodextrines fonctionnalisées ont été mesurées. La Figure 1.8 montre la superposition des spectres d'absorption et d'émission des BODIPYs qui ne sont pas « clickées » sur la CD et des CDs fonctionnalisées par ces BODIPYs. Les longueurs d'onde d'absorption maximales sont peu modifiées par la liaison des BODIPYs à la CD. L'extension de la conjugaison sur la partie phényle de la BODIPY n'influence pas ces propriétés car le système conjugué du phényle est orthogonal au système du dipyrrométhane. La même chose est observée pour les longueurs d'ondes maximales d'émission.

En revanche, les λ_{max} d'émission et d'absorption sont décalées vers le rouge pour les composés portant un groupe éthyle et encore d'avantage pour ceux avec un PEG. L'éthyle

enrichi le cœur BODIPY en densité électronique et les alcynes étendent le système conjugué de ce cœur ce qui peut expliquer cet effet bathochrome.

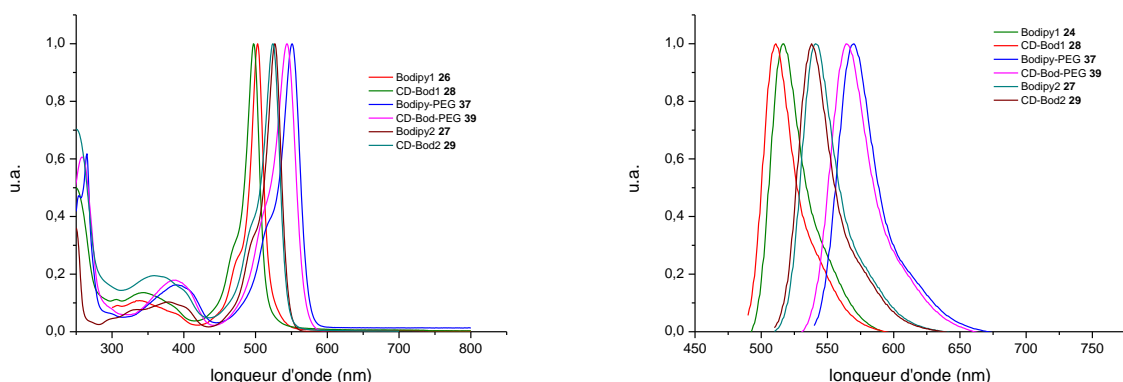


Figure 1.8 : Spectres normalisés d'absorption (à gauche) et d'émission (à droite) des composés BODIPY

Le Tableau 1.2 résume les propriétés optiques des différents BODIPYs. Les coefficients d'extinction molaires sont de l'ordre de grandeur de $100\,000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ce qui correspond à ce qui est décrit dans la littérature. De même les différents rendements quantiques obtenus sont corrects pour ces composés (autour de 50%).

Tableau 1.2: Propriétés des composés BODIPY

Composé	Solvant	$\lambda_{\text{max abs.}}$ (nm)	$\lambda_{\text{max em.}}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)	ϵ ($\text{M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Φ (%)
26	DCM	503	517	14	$70\cdot 10^3$	48
CD-Bod1 28	H ₂ O/CH ₃ CN (8/2)	499	511	12	--	43
CD-La-Bod1 41	H ₂ O/CH ₃ OH (1/1)	499	511	12	$67\cdot 10^3$	--
27	DCM	527	541	14	$83\cdot 10^3$	--
CD-Bod2 29	H ₂ O/CH ₃ OH (1/1)	524	538	14	$41\cdot 10^3$	--
37	DCM	551	570	19	--	46
CD-Bod-PEG 39	H ₂ O/CH ₃ CN (8/2)	544	564	20	--	47

2. CD cyanine

a. Généralités

La première cyanine a été obtenue en 1856 par Williams.^[85] Le motif cyanine de base est composé d'une chaîne carbonée dans un système conjugué de type polyméthine. Cette chaîne est terminée par 2 azotes qui font partie d'un hétérocycle (Figure 1.9).

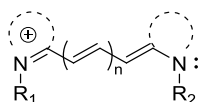


Figure 1.9 : Représentation générale d'une cyanine

Les cyanines présentent typiquement une bande d'absorption fine et d'importants coefficients d'absorption molaires.^[86] Les monométhines et les triméthines émettent dans le visible. Il a été montré que l'extension du squelette d'une unité vinylique déplace l'absorption vers le rouge de 100 nm et l'extension de l'hétérocycle contenant l'azote de 20 nm. La pentaméthine (Cy5) et l'heptaméthine (Cy7)ⁱⁱ sont des cyanines qui possèdent une émission dans rouge et le proche infrarouge.

Cependant les cyanines, surtout quand elles sont étendues, possèdent de faibles rendements quantiques dans l'eau et une faible photostabilité. De nombreuses recherches ont été menées pour remédier à ces limitations. Par exemple pour améliorer la stabilité l'introduction d'un chlorocyclohexyle dans le squelette polyméthine a été développée.^[87] Plusieurs modifications peuvent être réalisées pour moduler les propriétés d'absorption et d'émission outre la modification de la longueur de la chaîne polyméthine. Le déplacement de Stokes peut être augmenté en substituant le chlore par un azote.^[88] Pour améliorer la solubilité l'introduction de groupements sulfonates peut être envisagée.^[89] Une meilleure photostabilité peut être obtenue par l'introduction de groupements acétyles.^[90] Ces exemples sont montrés sur la Figure 1.10.

ⁱⁱ Pour Cy5 et Cy7, 5 et 7 désigne le nombre de carbone présent sur la chaîne entre les hétérocycles

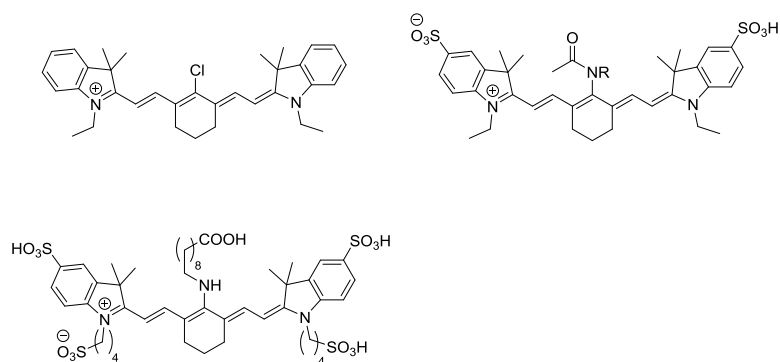


Figure 1.10 : Quelques exemples de cyanines

Tout comme les BODIPYs, les cyanines peuvent être utilisées dans plusieurs domaines comme sonde de pH, en photothérapie dynamique, dans cellules photovoltaïques.^[91]

Il existe de nombreuses cyanines différentes. Ainsi dans cette partie nous ne présenterons pas les synthèses décrites dans la littérature. Dans notre stratégie nous souhaitons avoir une cyanine qui absorbe et émette dans le proche infrarouge ; pour cela la synthèse d'un dérivé Cy7 est envisagée. Sur cette cyanine sera introduite une fonction alcyne pour pouvoir faire le couplage sur la CDN_3 et un groupement solubilisant (sulfonate ou carboxylate assurant la solubilité dans l'eau). Deux options de synthèses sont envisagées. La première est la post-fonctionnalisation d'une cyanine symétrique avec un alcyne terminal et la seconde la synthèse d'une cyanine asymétrique qui comprendra directement la fonction alcyne vrai (Figure 1.11). Ces travaux ont été menés dans le cadre du stage post-doctoral d'Aurélien Guénet.

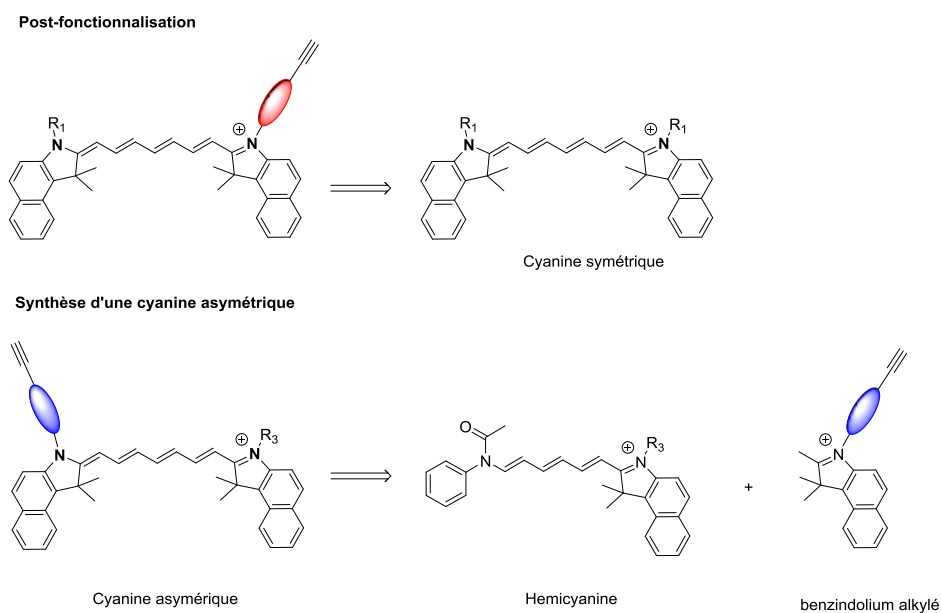


Figure 1.11 : Voies de synthèses envisagées pour la cyanine

b. Synthèse

Synthèse des benzindolium alkylés

Différents benzindoliums ont été synthétisés par alkylation du benzindole **42** par des dérivés halogénés. L'obtention des composés **43** et **44** se fait facilement par réaction entre le benzindole **42** et l'acide bromopropanoïque et l'iodohexyne dans le dichlorobenzène et l'acétonitrile respectivement. Les produits sont obtenus avec des rendements d'environ 70% (Schéma 1.24).

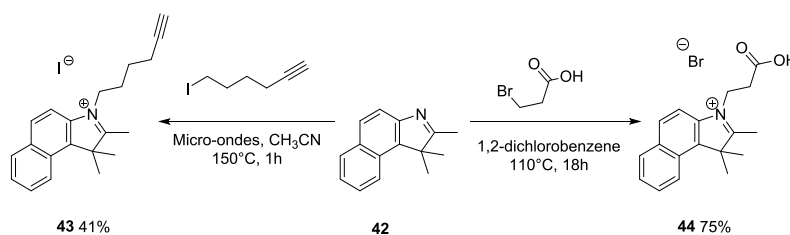


Schéma 1.24: Alkylation du benzindole

Un troisième dérivé benzindolium **45** a été préparé en faisant réagir la 1,4-butanedisulfonate avec le composé **42** dans le 1,2-dichlorobenzène avec un rendement de 55% (Schéma 1.25). Ainsi le dérivé sulfonate **45** est obtenu pour avoir éventuellement une meilleure solubilité dans l'eau.

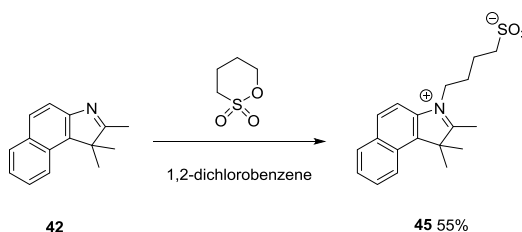


Schéma 1.25 : Synthèse du benzindolium portant un groupement sulfonate

Synthèse des cyanines

Post-fonctionnalisation

Dans un premier temps, une cyanine symétrique **47** avec la présence de deux fonctions acides carboxyliques a été synthétisée. Les groupements acides pourront servir à la post-fonctionnalisation de la cyanine. Pour cela le composé **46** est mis en présence d'anhydride acétique, de DIPEA dans du dichlorométhane pendant 1 heure. Le mélange obtenu est ensuite ajouté à un mélange contenant le composé **44** dans l'acétonitrile et l'eau en présence d'acétate de sodium. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 15h et le produit est obtenu avec un rendement de 99% (Schéma 1.26).

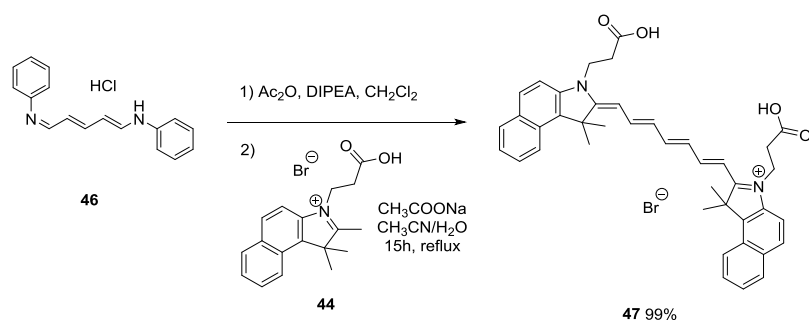


Schéma 1.26 : Cyanine symétrique

L'introduction d'un alcyne terminal sur l'une des fonctions acide carboxylique de la cyanine **47** a été envisagée avec la formation d'une fonction amide avec la propargylamine. L'activation de la cyanine avec une fonction succinimide a été tout d'abord testée. Pour cela le composé **47** est introduit dans du CH_2Cl_2 ou du DMF en présence de N-hydroxysuccinimide et d'EDCI. La dégradation du produit de départ est observée. Le produit de couplage n'a pas pu être isolé avec cette voie (Schéma 1.27).

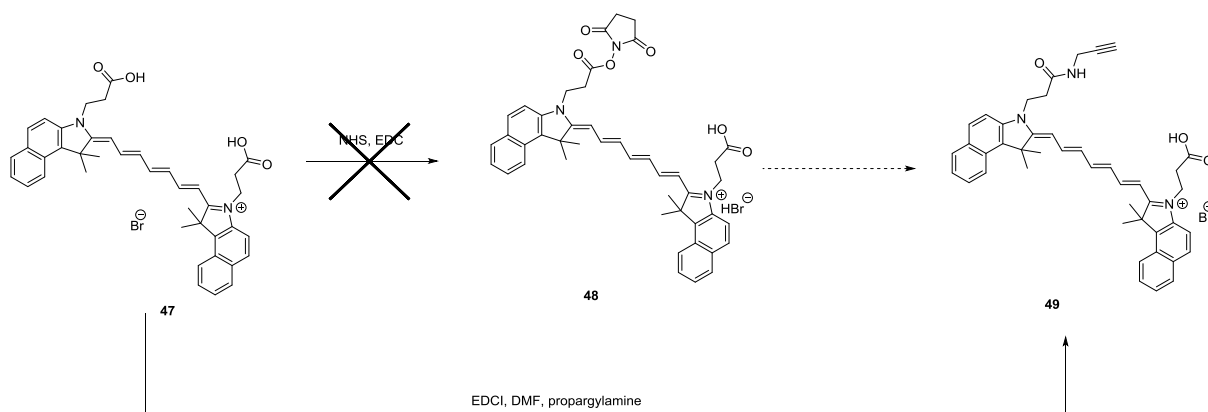


Schéma 1.27 : Introduction de l'alcyne terminal sur une cyanine symétrique

De ce fait, le couplage direct de la propargylamine a été réalisé en présence d'EDCI dans le DMF à température ambiante. Le produit apparaît sous forme de traces dans les bruts réactionnels. Le couplage peptidique semblant être difficile à mettre en œuvre la synthèse de cyanines asymétrique est alors envisagée. L'introduction de l'alcyne se fera donc pendant la synthèse de la cyanine.

Cyanine asymétrique

Le composé **46** et le benzindolium sulfonate **45** sont introduits dans un mélange pyridine et d'anhydride acétique. L'hémicyanine **50** est obtenue avec un rendement de 85%.

L'hémicyanine ainsi obtenue est mise en présence du composé **43** dans la pyridine à 50°C. La cyanine asymétrique **51** est obtenue avec un rendement de 75%. La cyanine alcyne est ensuite « clickée » sur la CDN₃ pour obtenir le composé CDCy **52** avec un rendement de 85%.

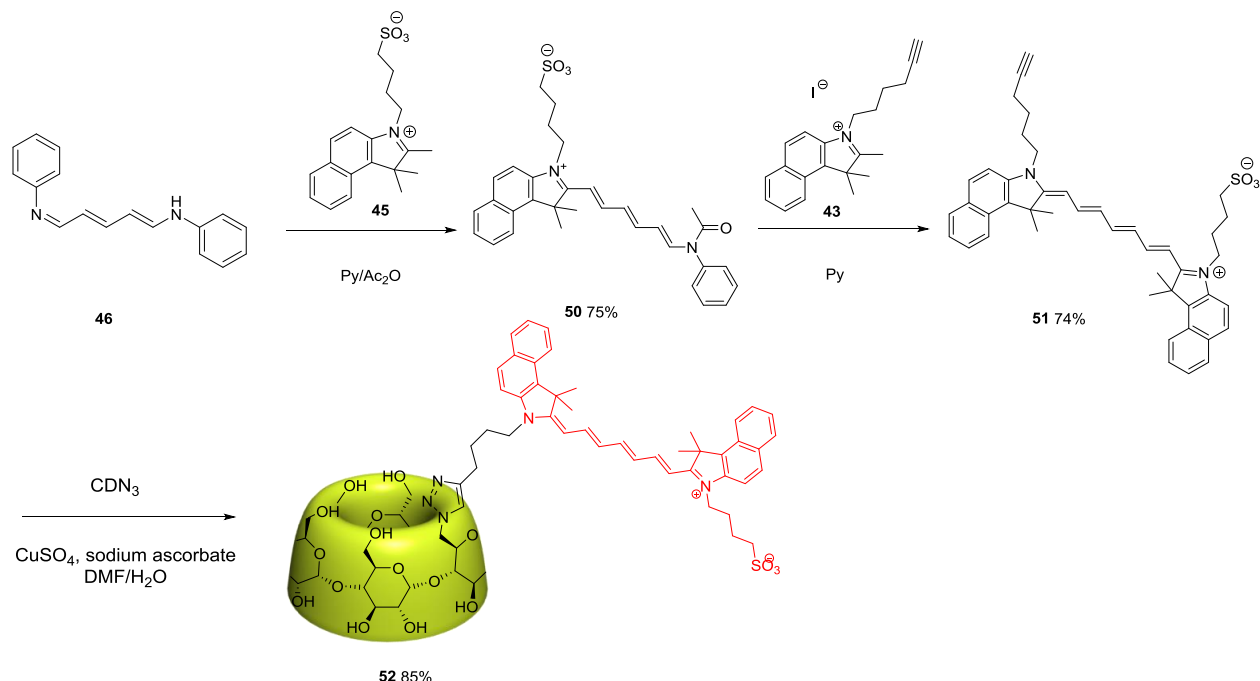


Schéma 1.28 : Synthèse de la cyanine asymétrique et la CDCy

c. Propriétés optiques

De même que pour les sondes BODIPYs, la conjugaison de la sonde fluorescente avec la cyclodextrine ne modifie pas les propriétés d'absorption et d'émission. En effet, la longueur maximale d'absorption entre la cyanine libre et celle qui est couplée à la CD ne change pas. La sonde obtenue absorbe ($\lambda_{\text{max abs}} = 785 \text{ nm}$) et émet ($\lambda_{\text{max em}} = 812 \text{ nm}$) comme attendue dans le proche infra-rouge (Figure 1.12).

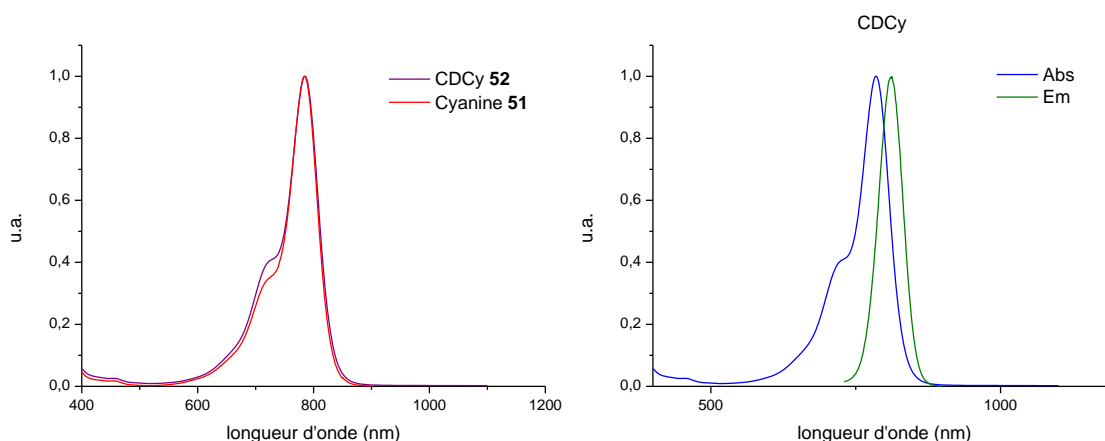


Figure 1.12 : Spectre d'absorption de **51** et **52** (gauche) et d'émission de CDCy (droite)

Néanmoins des problèmes de stabilité de ces composés notamment à la lumière et la température sont observés. Par la suite il serait peut être utile de travailler sur une cyanine avec une chaîne polyméthine plus courte (Cy5) ou d'utiliser une cyanine avec un cycle à 6 (chlorocyclohexyl) intercalé dans la chaîne polyméthine qui aura pour but de stabiliser le composé.

3. CD Europium

a. Généralités sur les lanthanides

Les lanthanides (Ln) font partie, avec les actinides, des éléments du groupe f dans la classification périodique. L'état d'oxydation le plus stable pour les lanthanides est +III (noté Ln(+III)) avec une configuration électronique $[\text{Xe}]5p^0 6s^0 4f^n$.

Les ions lanthanides sont des acides durs qui auront donc tendance à interagir avec des ligands durs comme l'eau, les carboxylates et les alcoolates. Les nombres de coordination les plus fréquents des Ln(+III) sont 8 ou 9 mais peuvent varier entre 6 et 12. Tous les ions Ln(+III) sont paramagnétiques à l'exception du lanthane et du lutécium.

Tous les complexes Ln(+III) (excepté La(+III) et Lu(+III)) sont luminescent avec des bandes d'émission étroites.^[92] L'euprimum et le terbium sont attractifs pour les applications en imagerie médicale, car ils émettent tous les deux dans le visible (respectivement dans le rouge et le vert). On peut noter que le Gd(+III) émet dans l'UV ce qui limite ses applications en tant que sonde luminescente puisque celle-ci va interférer avec les molécules endogènes de l'organisme. L'Erbium et l'Ytterbium sont utilisés dans l'élaboration de lasers et des

matériaux dans les télécommunications. Mais ces derniers commencent à être particulièrement étudiés pour les propriétés de luminescence dans le proche infrarouge.^[93]

En tant que sonde pour l'imagerie les complexes de lanthanide permettent à cause de leur longue durée de vie de luminescence (μs - ms) de s'affranchir de la fluorescence des molécules endogènes en majorité organique (*e.g.* l'hémoglobine) ayant une durée de vie d'émission beaucoup plus courte (ns).

L'excitation directe de ces complexes est difficile car les transitions f-f sont interdites (règle de Laporte) et présentent des coefficients d'absorption molaire très faibles. L'excitation de ces complexes peut être réalisée avec des lasers et une forte concentration en ions.

Il est donc nécessaire d'introduire un photosensibilisateur souvent organique appelé antenne. Ce phénomène a été démontré pour la première fois par Horrocks.^[94] Le photosensibilisateur transmet son énergie au lanthanide adjacent qui va se trouver dans un état excité. Le complexe ensuite émet à une longueur d'onde plus grande (Figure 1.13).

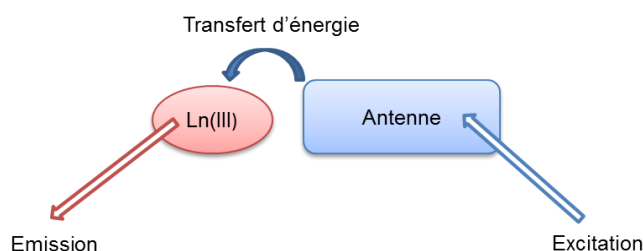


Figure 1.13 : Photosensibilisation d'un complexe de Ln(+III)

Sous irradiation, le photosensibilisateur passe d'un état fondamental S_0 à un état excité singulet S_1 . Ensuite celui-ci va passer à un état triplet T_1 via une conversion intersystème. L'énergie sera ensuite transférée au complexe de lanthanide et une émission sera possible (Figure 1.14).

Des systèmes aromatiques sont utilisés pour l'élaboration d'antenne. Un chromophore idéal pour les complexes d'Eu doit absorber la lumière efficacement, et avoir une conversion intersystème de l'état singulet à l'état triplet très rapide. Il doit avoir un état triplet haut en énergie et un petit écart en énergie entre l'état singulet et l'état triplet (1500 cm^{-1}).

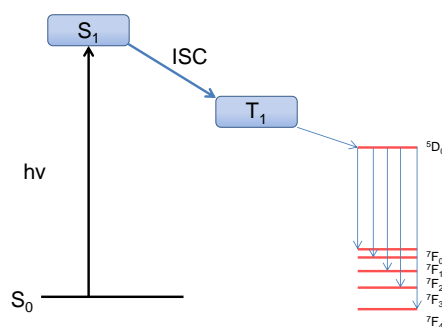


Figure 1.14 : Mode d'émission des complexes d'Eu photosensibilisés

Le nombre de photosensibilisateurs reste, à cause de ces conditions, limitées aux coumarines, phenanthridines, tris-bipyridylcryptate, acridones et les aryles cétones par exemples.^[95]

Pour les études dans le vivant il est aussi nécessaire d'avoir une bonne stabilité cinétique et thermodynamique du complexe. Aussi le DOTA semble encore une fois un bon ligand pour l'élaboration d'un complexe photoluminescent à base d'euprium.

b. Synthèse

L'élaboration de ce complexe photoluminescent a été réalisée pendant le stage de Solène Batut. La synthèse commence par un couplage peptidique entre la 4,4'-diaminobenzophénone et l'acide pentynoïque en présence de DCC, HOBt dans le DMF à température ambiante. Le produit de monocouplage est isolé avec un rendement de 60%. Le produit **53** est couplé avec l'acide bromoacétique en présence de DCC dans l'acétonitrile pour obtenir le composé **54**. Le brome de ce dernier est substitué par le cyclen *tertio*-butylé. Ensuite les acides sont déprotégés en présence de TFA, et le ligand est complexé avec le lanthane et l'euprium. Les complexes obtenus sont ensuite « clickés » sur la CDN_3 pour donner la nouvelle CD fonctionnalisée **59** et **60** (Schéma 1.29).

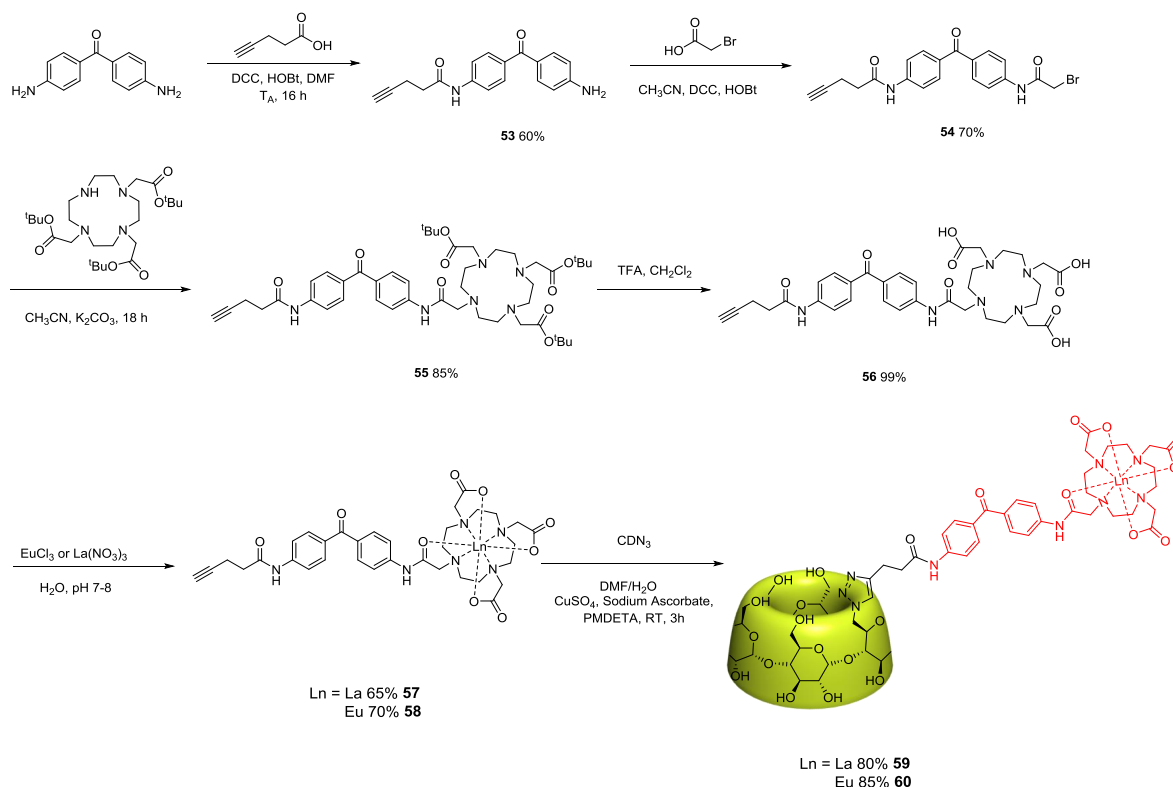


Schéma 1.29: Synthèse du complexe photoluminescent à base d'euprimum

Photoluminescence

Les mêmes observations que pour les deux autres types de composés (BODIPY et cyanine) peuvent être faites. En effet les bandes d'absorption et d'émission sont les mêmes avec ou sans cyclodextrines. Les composés ont effectivement un large déplacement de Stokes et on peut observer 4 bandes d'émission. L'excitation de ces composés se fait à 300 nm (dans l'UV) ce qui peut être une limitation pour leur utilisation dans l'imagerie *in vivo* (absorption par les molécules endogènes). A priori on devrait en observer 5 ; la cinquième, attendue vers 550, est trop faible pour pouvoir être observée dans les conditions de mesures.

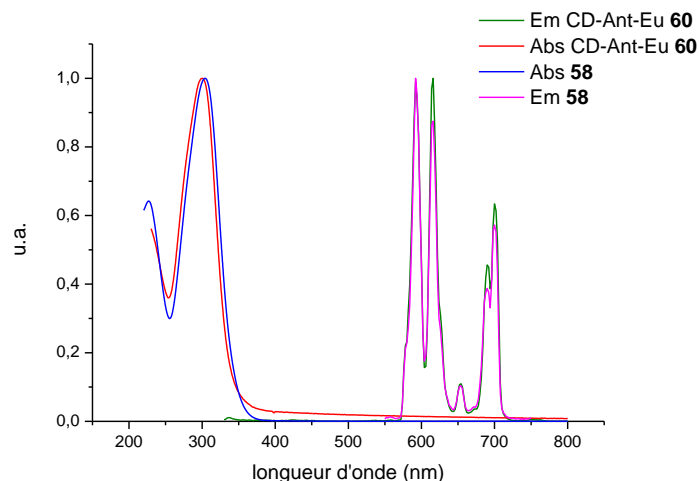


Figure 1.15 : Absorption et émission de Ant-Eu et de CD-Ant-Eu dans MeOH/Eau

IV. Conclusion

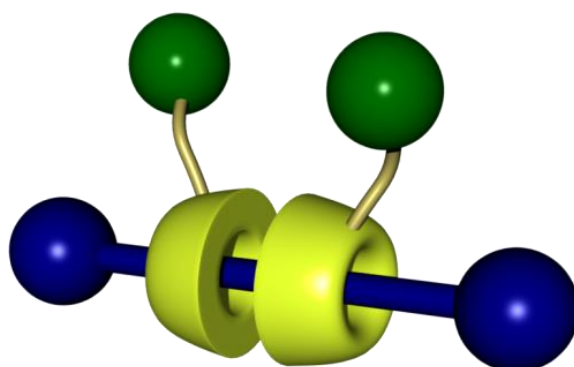
Dans ce chapitre nous avons présenté, la synthèse de différentes cyclodextrines fonctionnalisées soit par un agent de contraste pour l'IRM, soit par différentes sondes fluorescentes. La fonctionnalisation des CDs par la CuAAC est robuste.

Pour les agents de contraste, le couplage avec la cyclodextrine augmente les relaxivités par rapport au complexe seul. Une amélioration des propriétés en tant qu'agent de contraste pour l'IRM est déjà observée. De plus les propriétés optiques des sondes fluorescentes ne changent pas quand celles-ci sont sur la cyclodextrine. Les CDs synthétisés remplissent donc le cahier des charges au niveau des propriétés de fluorescence et de relaxivité.

Ayant les différentes « briques » en main, nous pouvons maintenant nous intéresser aux propriétés d'enfilage des CDs.

Chapitre 2

Choix de l'axe et synthèse de rotaxanes



Comme il a été montré dans l'introduction bibliographique, plusieurs axes ont été utilisés pour la synthèse de rotaxanes et de polyrotaxanes de cyclodextrines. Les interactions qui prédominent pour la formation de ces architectures sont les forces de Van Der Waals et les interactions hydrophobes. Deux polymères sont principalement utilisés pour la formation de polyrotaxanes avec l' α -CD : le polyéthylène glycol et les polyammonium. Ainsi dans cette partie nous avons voulu déterminer lequel de ces axes serait optimal pour nos CDs fonctionnalisées. Pour cela différentes études (RMN notamment) ont été menées sur des axes modèles « monomériques » afin de déterminer leur affinité avec les CDs. Une fois le monomère choisi, des études sur les pseudo-rotaxanes ont été réalisées afin de voir comment elles se comportaient vis-à-vis de l'enfilage au niveau cinétique mais aussi thermodynamique. De plus des [3]rotaxanes modèles ont été synthétisés avec les cyclodextrines fonctionnalisées par les agents de contraste pour l'IRM.

I. Pseudo-rotaxanes de cyclodextrines

1. Généralités

Plusieurs types de complexes d'inclusion (CI) peuvent se former en fonction de l'axe qui s'inclut dans la cyclodextrine : lipophile, amphiphile ou bola-amphiphile (Figure 2.1, voir Introduction III-1-b).^[96]

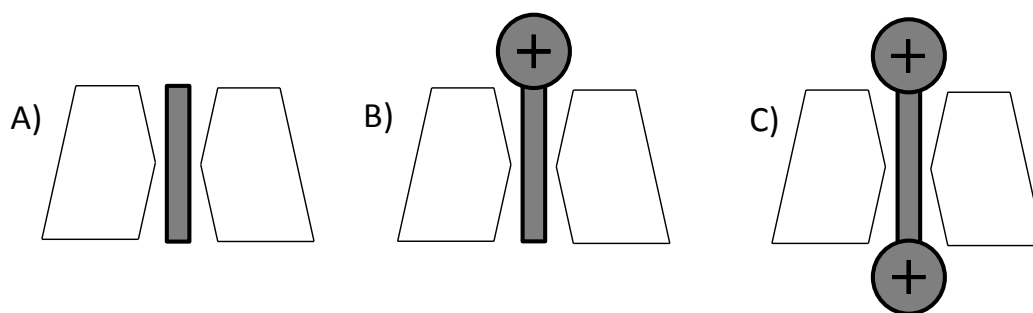


Figure 2.1 : Représentation des différents types de complexes d'inclusion de CD : (A) avec un invité lipophile, (B) avec une espèce amphiphile, (C) avec une espèce bola-amphiphile.

Le diamètre de la cavité interne de l' α -CD ($d = 4,9 \text{ \AA}$) permet d'inclure principalement des chaînes alkyles linéaires et des petites molécules. La plupart du temps les complexes d'inclusion d' α -CD et d'alcane linéaires précipitent car des liaisons hydrogène se forment entre les cyclodextrines. Cela a tendance à rendre ces CIs insolubles dans l'eau.

Les principaux axes qui sont décrits dans la littérature sont donc les alcanes mais aussi les azobenzènes^[39], les stilbènes^[39], les tétrathiafulvalène^[97] (Figure 2.2). Les cycles benzéniques et les cyclohexanes peuvent s'inclure partiellement dans l' α -CD en restant à proximité de la couronne secondaire de cette dernière qui est plus large. En effet même si ces cycles peuvent passer au travers de la cyclodextrine les complexe d'inclusion formés ne sont pas très stables.^[98]

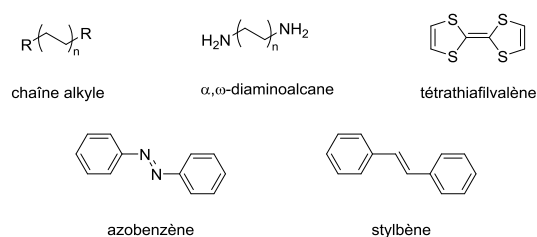


Figure 2.2 : Invités pouvant s'inclure dans l' α -CD

Des groupements hydrophiles, comme les hydroxyles et les amines peuvent rendre les complexes d'inclusion (alcane + CD) solubles dans l'eau. Pour les α,ω -diaminoalcane, une étude montre que l'enthalpie libre de réaction (pour l'équilibre entre axe, CD et le complexe d'inclusion formé) diminue (sa valeur absolue augmente) quand la longueur de la chaîne alcane augmente.^[99] Pour les chaînes alcanes de taille inférieure à 6 carbones la constante d'association n'a pas pu être mesurée les amines qui sont hydrophiles empêchent la formation d'un édifice stable. Les têtes polaires sont en effet trop proches de la cavité hydrophobe de la CD.

On peut noter que la β -CD peut inclure une plus grande variété d'invités puisque la cavité est un peu plus grande que l' α -CD (6,2 Å contre 4,9 Å). Elle peut par exemple inclure les dérivés aromatiques (benzène, naphthalène, anthracène) et l'adamantane.

2. Etudes thermodynamiques

La formation de complexes d'inclusion entre un axe et une CD peut être parfois difficile à montrer en RMN. En effet, les déplacements chimiques en RMN ^1H subissent très peu de modifications entre l'axe libre et l'axe inclus dans la CDs. Des cristaux de ces édifices peuvent aussi fournir sans ambiguïté les informations sur leur formation, mais ces cristaux ne sont pas simples à obtenir et ne donnent pas accès aux paramètres thermodynamiques qui nous intéressent. Pour caractériser ces équilibres entre ces petits axes et les CDs, la mesure des coefficients de diffusion par RMN est un outil utile.^[100]

a. Mesure des coefficients de diffusion

Les coefficients de diffusion peuvent être déterminés par la technique RMN de DOSY (diffusion ordered spectroscopy). Pour cela une séquence de « pulse-gradient spin echo » (PGSE) est utilisée. Le rapport entre l'intensité de l'écho I en présence d'un gradient de champ magnétique et I_0 en l'absence de ce gradient est donné par la relation suivante (Equation 2.1):

$$\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\gamma^2 g^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) D = -bD \quad \text{Equation 2.1}$$

$$\text{avec } b = \gamma^2 g^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right)$$

Avec γ est le rapport gyromagnétique (rad.s.gauss^{-1}), Δ la durée entre les impulsions de gradient de champ (s), δ la durée des impulsions (s), D le coefficient de diffusion ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$), g l'intensité du gradient (gauss.cm^{-1}).

Le graphe de $\ln(I/I_0)$ en fonction du paramètre b donne une droite dont la pente est le coefficient de diffusion D de l'espèce.

La différence entre les coefficients de diffusion de l'invité (axe) libre et lorsqu'il est inclus dans la CD permet de calculer le pourcentage d'axe inclus dans la CD. Ce pourcentage est donné par la relation suivante (Equation 2.2):

$$X = \frac{D_{\text{axe}} - D_{\text{CI}}}{D_{\text{axe}} - D_{\text{CD}}} \quad \text{Equation 2.2}$$

Où D_{axe} est le coefficient de diffusion de l'axe libre, D_{CD} le coefficient de la CD et D_{CI} le coefficient de diffusion dans l'édifice.

L'hypothèse pour l'application de cette relation (Equation 2.2) est que le coefficient de diffusion de la CD ne change pas lorsque le complexe d'inclusion est formé. Autrement il faut réaliser un dosage et un « fit » des résultats.

b. Choix de l'axe

Dans un premier temps, nous avons étudié deux complexes d'inclusion différents avec deux axes qui sont : le 1,12-diaminododécane **61** (comme modèle des polyamines) et le

4,7,10-trioxa-1,13-tridécanediamine ou minPEG **62** (comme modèle du PEG) (Figure 2.3). Le modèle du PEG **62** comporte deux unités éthylène glycol car une CD recouvre deux unités lors d'un enfilage. Les extrémités de ces deux modèles sont des amines (comportement bola-amphiphile). Si les CIs se forment, ils resteront solubles dans l'eau et les études RMN restent possibles.

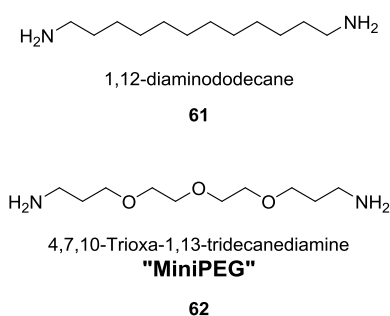


Figure 2.3 : Axes modèles pour les études d'enfilage

Les déplacements chimiques des protons de l'axe **61** subissent très peu de modifications lors de l'ajout de CD comme on peut le voir sur les RMN ¹H de la Figure 2.4. Ces spectres ont été réalisés à une concentration de 2,8 mM dans D₂O, l'axe et les CDs étant introduits dans un mélange 1 pour 1. Une très faible modification est observée aussi bien pour la CD native que pour la CDLa. Pour les CH₂ qui portent les amines de l'axe il n'y a aucune modification quand le complexe d'inclusion est formé avec la CD, et une légère modification du déplacement chimique est observée quand le CI est formé avec la CDLa (2,66 ppm pour l'axe seul et 2,69 ppm quand celui-ci est dans le mélange CDLa). La caractérisation de ces CI est donc difficile par simple dosage RMN ¹H.

Si l'échange entre l'axe et la CD est rapide par rapport au temps caractéristique de la RMN, il faut modéliser les variations de déplacements chimiques en fonction de la concentration en invité pour remonter à la constante d'association. Dans notre cas ces variations sont très faibles même quand la complexation est forte. Une autre technique telle que la DOSY doit alors être utilisée pour obtenir les constantes d'équilibres.

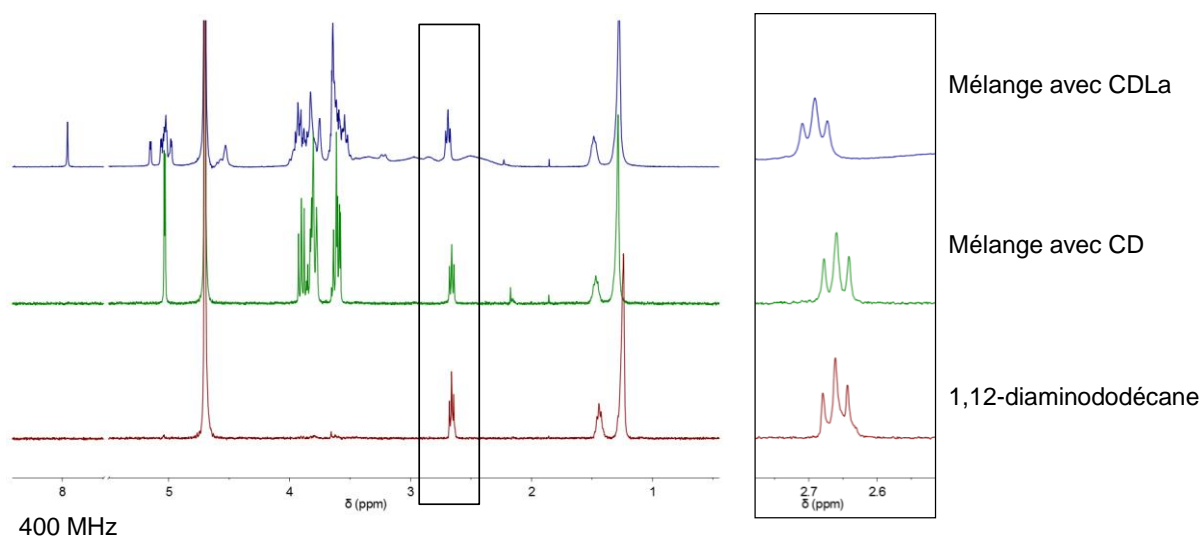


Figure 2.4 : Spectres RMN ^1H à 400 MHz du 1,12-diaminododécane, et du mélange avec le CD et la CDLa (1:1)

Les équilibres entre les différents axes et les CDs ont été étudiés. Pour cela les CDs et les axes sont mélangés dans D_2O et les coefficients de diffusion sont relevés. La Figure 2.5 montre l'empilement des spectres protons, en fonction du gradient de champ, du diaminododécane en présence et en l'absence de CDLa. La décroissance des signaux est plus lente pour l'axe en mélange (Figure 2.5 A)) que pour l'axe seul (Figure 2.5 B)). Cela montre bien qu'il y a une diminution des coefficients de diffusion qui est due à la formation d'un complexe d'inclusion entre l'axe et la CDLa.

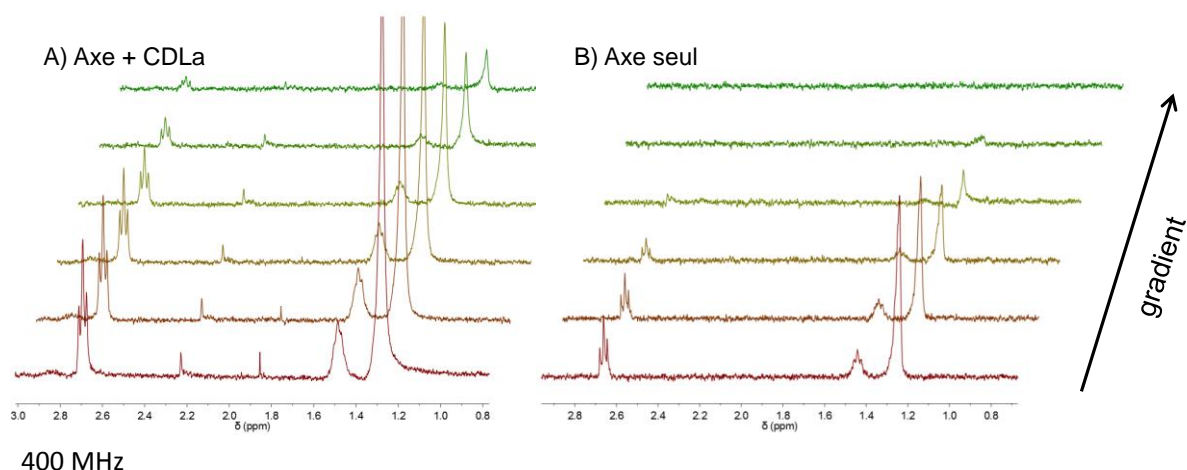


Figure 2.5 : Intensité des signaux de l'axe en fonction de l'intensité du gradient de champ pour (A) l'axe en mélange et (B) l'axe seul

Sur les deux graphes de la Figure 2.6 ont été reportés $\ln(I/I_0)$ en fonction du paramètre b qui a été défini plus haut (Equation 2.1). La pente de chaque droite représente le coefficient de diffusion de chacun des éléments dans le mélange. Ces coefficients ainsi obtenus peuvent donner accès au pourcentage d'axe inclus dans la CD. Pour les deux mélanges, le coefficient de diffusion des CDs aussi bien seules qu'en mélange sont très peu modifiés (Tableau 2.1). Donc l'hypothèse pour le calcul du taux d'inclusion est bien vérifiée. En revanche le diaminododécane voit son coefficient de diffusion fortement modifié et se rapprocher vers celui de la CD. La CD qui est plus grande et a un coefficient de diffusion plus faible, impose sa vitesse de diffusion en solution au complexe d'inclusion (axe + CD).

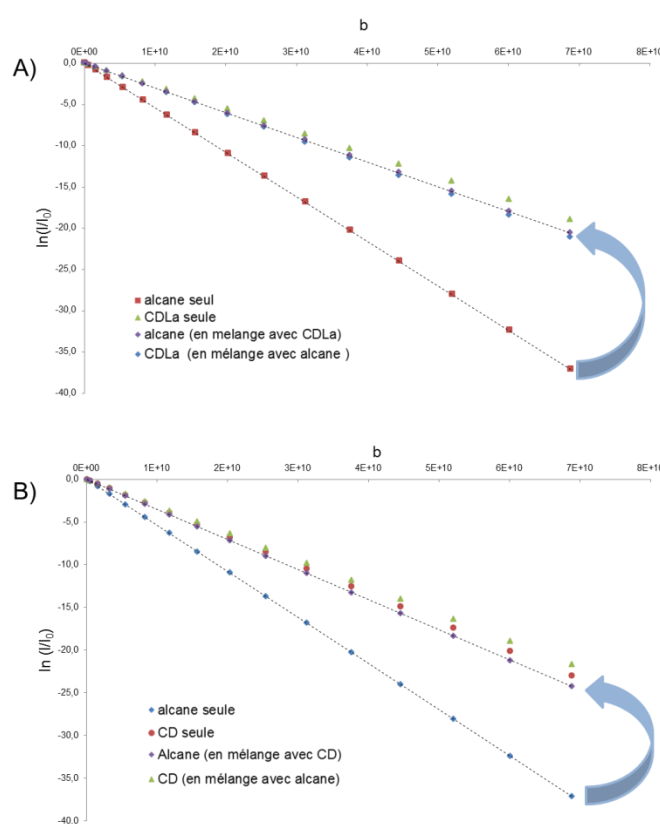


Figure 2.6 : $\ln(I/I_0)$ en fonction de b pour (A) le diaminododécane en présence de CDLa (B) et en présence de CD

Les différents coefficients D ont été déterminés avec les deux axes et les deux CDs et reportés dans le Tableau 2.1. On peut voir dans un premier temps que le miniPEG **62** semble peu s'inclure dans les CDs. D'une part les coefficients de diffusion subissent très peu d'évolution entre seul et en mélange. Par exemple en présence de 1 équivalent de CD le coefficient de l'axe seul est de $6,51 \cdot 10^{-10}$ et $6,32 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ quand il est en mélange. D'autre

part, en appliquant la formule qui donne le taux d'axe inclus (Equation 2.2), on s'aperçoit qu'effectivement le pourcentage de miniPEG inclus dans les cyclodextrines est faible. En revanche le pourcentage de diaminododécane inclus dans les CDs est très important, jusqu'à 90% en présence d'un équivalent de CD fonctionnalisée. On peut déduire de ces études préliminaires que les alcanes sont de bien meilleurs invités pour la CD que les PEGs. Les interactions hydrophobes peuvent expliquer cela. En effet le PEG est plus hydrophile que l'alcane et ce dernier va être plus stabilisé dans la cavité hydrophobe de la CD.

Tableau 2.1 : Coefficient de diffusion D des différents composants du mélange (1:1), le pourcentage d'axe inclus dans les CDs et la constante d'équilibre K

	Axes	D_{axe}	D_{CD}	D_{CI}	X (%)	Log K
CD	MiniPEG	$6,51 \cdot 10^{-10}$	$4,06 \cdot 10^{-10}$	$6,32 \cdot 10^{-10}$	8	1,5
	1,12-diaminododécane	$5,39 \cdot 10^{-10}$	$3,14 \cdot 10^{-10}$	$3,52 \cdot 10^{-10}$	83	4,0
CDLa	MiniPEG	$6,51 \cdot 10^{-10}$	$3,14 \cdot 10^{-10}$	$6,44 \cdot 10^{-10}$	2	0,9
	1,12-diaminododécane	$5,39 \cdot 10^{-10}$	$2,75 \cdot 10^{-10}$	$2,98 \cdot 10^{-10}$	90	4,5

D en $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$

La 1,6-diaminohexane a été testée pour confirmer l'importance de la longueur de la chaîne. Pour cela 5 équivalents de CD et 1 équivalent de diaminohexane sont mis en solution dans D_2O . La Figure 2.7 montre le graphe de $\ln(I/I_0)$ en fonction du paramètre b . Le coefficient de diffusion de la CD dans le mélange ou seul ne change toujours pas. Pour l'amine on peut voir que la pente change mais n'atteint pas celle de la CD. 5 équivalents de CD ont été introduites pour obtenir cet équilibre. Il y a environ 50% d'axe inclus dans la CD (soit un $\log(K) = 2$). Avec 1 équivalent de CD il n'y a pas de changement notable du coefficient de diffusion du diaminohexane. En effet les interactions hydrophobes sont moins importantes. De plus les amines qui sont polaires se rapprochent de la cavité hydrophobe ce qui est défavorable. Une étude plus complète est développée pour l' α -CD dans la littérature^[100] qui montre que l'enfilage optimal pour les alcanes diamine est observé avec 10, 11 et 12 carbones. Pour les chaînes avec moins de 10 carbones la constante d'équilibre diminue rapidement.

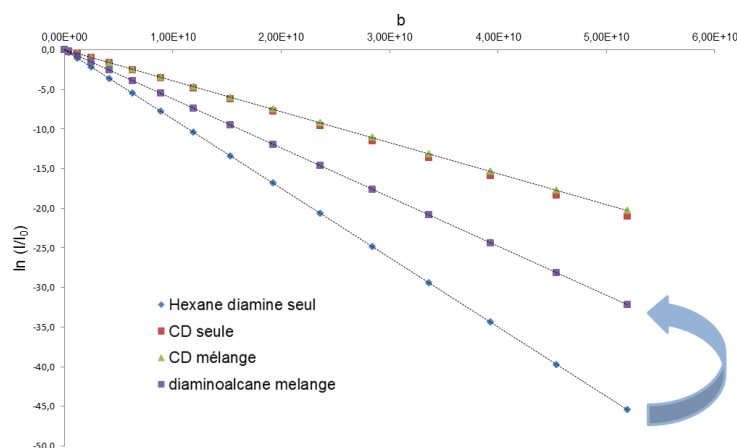


Figure 2.7 : $\ln(I/I_0)$ en fonction de b pour le mélange diaminohexane CD

En conclusion, la mono-fonctionnalisation des CDs semble ne pas affecter les propriétés d'hôte de la CD car d'après l'étude DOSY le diaminododécane **61** s'inclut toujours dans la CDLa. De plus, le monomère à chaîne alkyle **61** s'inclut nettement plus dans les CDs que la chaîne oligoéthylèneglycol **62**. Le comportement attendu pour le polyrotaxane devrait être similaire avec un meilleur enfilage de la cyclodextrine aussi bien native que fonctionnalisée sur un polymère avec des unités alkyles. Le choix le plus judicieux semblerait être le polyamine (ou polyammonium) de type $H_2N(C_{12}H_{24}NH)_n C_{12}H_{24}NH_2$ pour la synthèse de polyrotaxanes fonctionnalisés. En outre la longueur de la chaîne alkyle est importante. En effet si une chaîne trop courte est choisie, l'enfilage sera beaucoup moins efficace.

3. Etudes cinétiques

Après avoir déterminé les paramètres thermodynamiques, nous avons voulu déterminer la vitesse d'enfilage des CDs fonctions sur un axe modèle du polyammonium. Pour cela la substitution des amines du diaminododécane par des groupements qui rend l'étape d'enfilage des CDs plus lent doit être réalisée. Différents pseudo-bouchons ont été décrits dans la littérature (Figure 2.8).

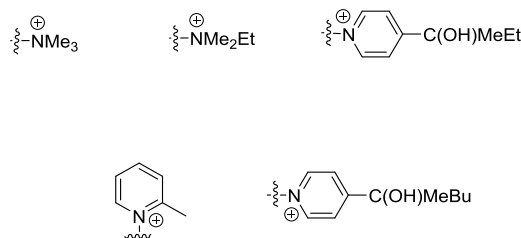


Figure 2.8 : Exemples de pseudo-bouchons^[101-103]

Dans notre cas nous avons choisi de perméthyliser les fonctions amines du diaminododécane. Les groupements méthyles font donc office de pseudo-bouchons et la barrière énergétique à franchir lors de l'enfilage de la CD est plus importante par rapport au NH_2 . Le suivi cinétique de l'enfilage et la formation du pseudo[2]rotaxane a été effectué par RMN ^1H . Dans la littérature il a été montré qu'avec cet ammonium seul des pseudo[2]rotaxanes peuvent se former (et non des pseudo[3]rotaxanes).^[100] L'axe **63** a été au préalable synthétisé par la perméthylation du 1,12-diaminododécane par l'iodure de méthyle en présence de K_2CO_3 dans l'acétonitrile.

Ensuite, pour étudier la cinétique de formation des pseudo-rotaxanes, les CDs et l'axe perméthylé sont mélangés dans les proportions stœchiométriques (1:1) dans D_2O . Ce suivi RMN permet d'avoir accès aux constantes cinétiques d'enfilage sur ce petit axe et aussi l'influence de la fonctionnalité de la CD.

Sur la Figure 2.9, quelques spectres RMN ^1H sont présentés pour l'enfilage de la CD sur l'axe. Dans la région de 5 ppm (protons anomériques), il y a deux signaux : l'un qui augmente (CD enfilée) et l'autre qui diminue (CD libre). Dans la région de 3 ppm le singulet correspondant aux six méthyles de l'axe qui sont tous équivalents au début de la réaction (5 min) diminue et donne place au cours du temps à deux singulets. En effet trois groupements méthyles voient la couronne primaire de la CD alors que les trois autres voient la couronne secondaire lorsque la CD est enfilée.

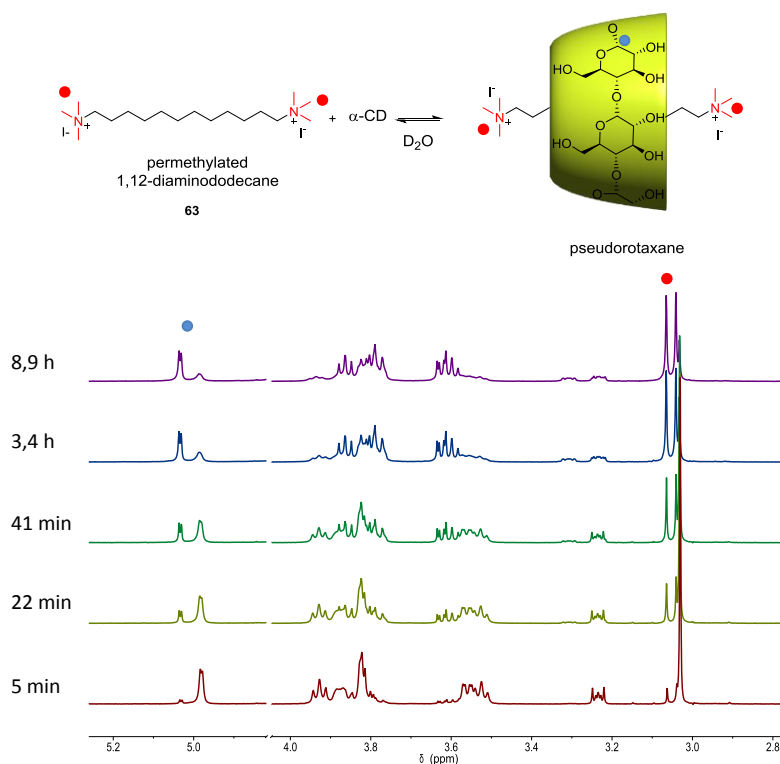


Figure 2.9 : Suivi RMN ^1H (600 MHz, D_2O) de l'enfilage de la CD sur **63**

Avec la CDLa, la RMN ^1H est plus complexe (Figure 2.9), mais néanmoins certains signaux sont faciles à interpréter, par exemple ceux du triazole dans la région de 8 ppm. Celui qui augmente correspond à la CDLa enfilée et celui qui diminue à la CDLa libre. Comme avec la CD native les méthyles des deux extrémités de l'axe **63** ne sont plus équivalents une fois la CDLa enfilée ce qui se traduit par l'apparition de deux singulets dans la région à 3 ppm.

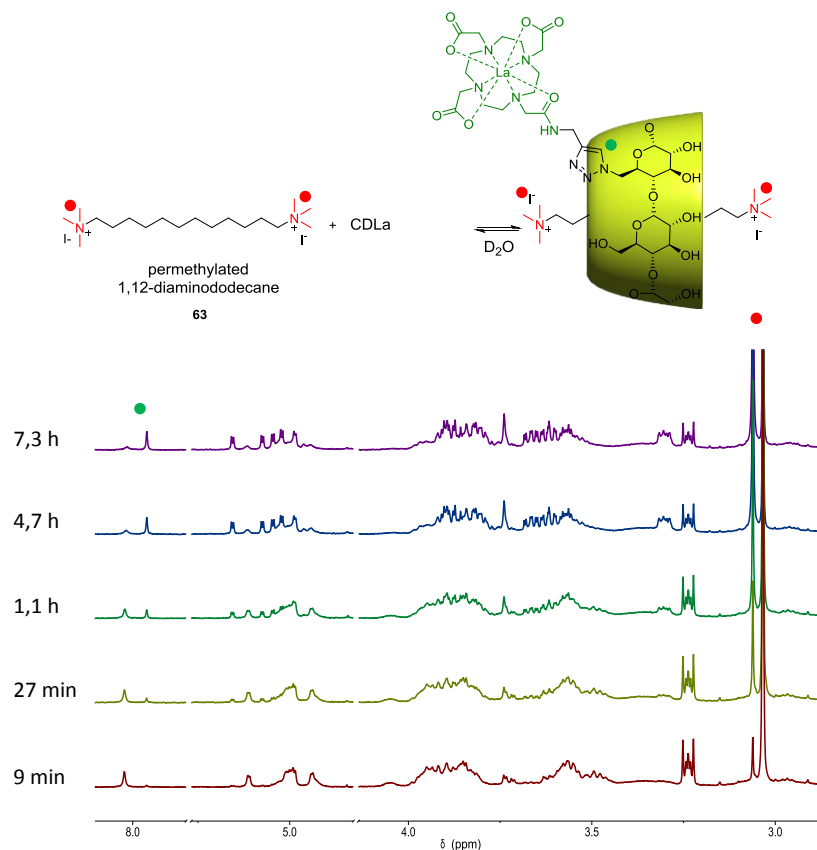


Figure 2.10 : Suivi RMN 1H (600 MHz, D_2O) de l'enfilage de la CDLa sur **63**

Ce suivi cinétique a été réalisé pour différentes cyclodextrines fonctionnalisées. Des exemples de *fit* sont reportée sur la Figure 2.11 pour la CD, CDLa, CD-Bod1 et CDLa₂.

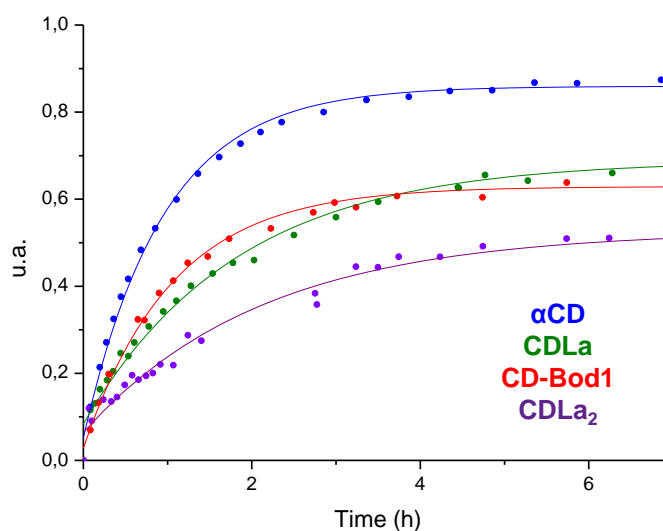


Figure 2.11 : Suivis cinétiques pour la CD, CDLa, CD-Bod1 et CDLa₂

Les résultats sont reportés dans le Tableau 2.2. Les proportions de chaque espèce en solution sont déterminées par intégration des signaux sur les spectres RMN. Les CDs s'enfilent à peu près à la même vitesse.

Les CDs fonctionnalisées ont une moins bonne affinité avec l'axe en comparaison avec la CD native. En effet, la constante d'association de cette dernière est plus grande d'un ordre de grandeur que celle de toutes les CDs fonctionnalisées. Les CDs mono-fonctionnalisées qui ont été synthétisées ont une affinité à peu près similaire pour l'axe avec un pourcentage de CDs enfilées autour de 70%. Les CDs di-fonctionnalisées ont une affinité qui est moins importantes que les mono-fonctionnalisées. La CDLa₂ est enfilée à uniquement 50% et la CDLa-Bod1 uniquement à 20%. L'encombrement stérique des deux fonctions qui sont sur le col primaire de la CD peut expliquer cette affinité réduite.

Tableau 2.2 : Constante d'association, temps caractéristique d'enfilage et proportion de CDs enfilées
X entre les CDs et l'axe **63**

	Log K	t_{1/2} (min)	X (%)
CD	4,3	39	88
CDLa	3,3	77	66
CD-Bod1	3,4	44	68
CD-Ant-La	3,4	93	68
CDLa₂	2,9	65	53
CD-La-Bod	1,2	48	18

En conclusion, les CDs fonctionnalisées peuvent donc interagir avec le diammonium et former des pseudo[2]rotaxanes. Les CDs mono-fonctionnalisées ont à peu près la même constante d'équilibre. Les temps caractéristiques d'enfilage sont du même ordre de grandeur. En revanche les CDs di-fonctionnalisées ont une affinité beaucoup plus faible.

II. Synthèse des rotaxanes

1. Rotaxanes de cyclodextrines

Différents types de rotaxanes de CDs existent dans la littérature (cf. Chapitre 1). Comme nous l'avons déjà vu, plusieurs axes peuvent être utilisés. La stratégie de synthèse la plus employée pour l'élaboration de rotaxane de CDs est celle de l'enfilage *ie* dans un premier temps former le pseudorotaxane entre l'axe et le macrocycle et ensuite introduire les bouchons (Figure 2.12).

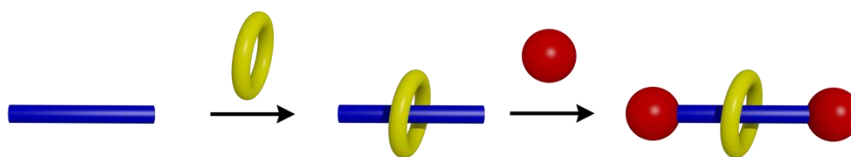


Figure 2.12 : Synthèse de rotaxanes par la méthode
« enfilage » puis bouchonnage

La taille du bouchon doit être supérieure au diamètre interne de la CD. Pour l' α -CD les plus petits bouchons connus sont le 3,5-diméthylphényle^[104] et le 3,5-dicarboxylate phényle^[105]. D'autres bouchons peuvent être utilisés (et sont décrits dans la littérature) tels que le TEMPO^[106], le pycrile^[107], le naphthalène disulfonyle^[108] et des complexes de métaux de transitions^[38, 109, 110] (Figure 2.13).

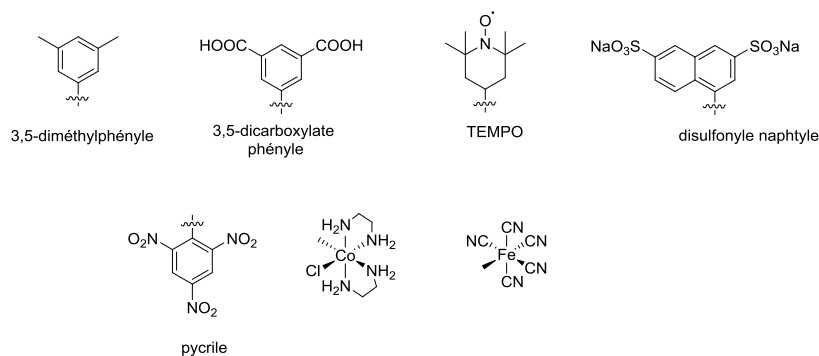


Figure 2.13 : Exemples de bouchons utilisés pour les rotaxane CD

Plusieurs types de réactions ont été utilisés pour la rotaxation de pseudorotaxanes comme la formation de complexes de métaux de transitions et des couplages paladocatalysés. Le couplage de Suzuki est utilisé parce qu'il est compatible avec les conditions de formation des pseudorotaxanes (notamment le milieu aqueux). Par exemple (Schéma 2.1), H. L. Anderson a synthétisé un rotaxane de β -CD avec un dithiophène comme axe. Dans un premier temps l'ester boronique du dithiophène est mis en présence de β -CD pour la formation du pseudorotaxane ; puis le bouchon qui est un diacide est rajouté avec les réactifs pour le couplage C-C et obtenir ainsi le [2]rotaxane.^[111]

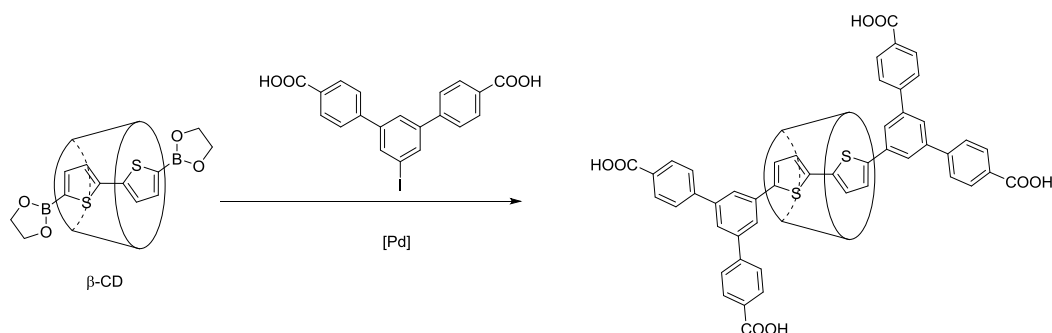


Schéma 2.1: Rotaxation par un couplage de Suzuki

La formation de liaisons C-N par S_NAr est aussi possible (Schéma 2.2). Tout d'abord le pseudorotaxane est formé entre l' α -CD et un dérivé du stilbène qui possède des fonctions amines. Ces dernières peuvent ensuite réagir avec l'acide 2,4,6-trinitrobenzène sulfonique pour former le [2]rotaxane.^[107]

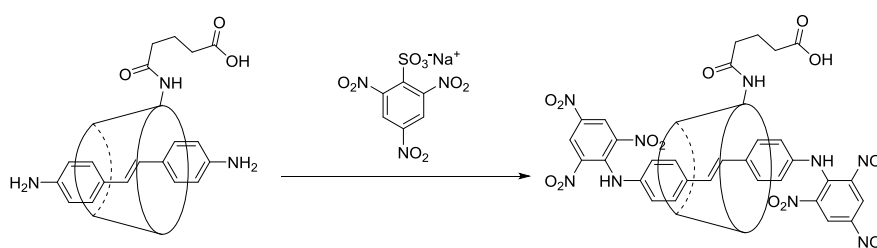


Schéma 2.2 : Introduction de bouchons par une S_NAr

La réaction de CuAAC est une réaction prometteuse pour la synthèse de rotaxanes. En effet celle-ci reste complètement compatible avec les conditions de formations des pseudorotaxanes de cyclodextrines. Sur le Schéma 2.3, l'enfilage d'une CD sur un TTF est réalisé. Ensuite par réaction CuAAC, les auteurs introduisent un bouchon (l'autre étant déjà présent).^[97]

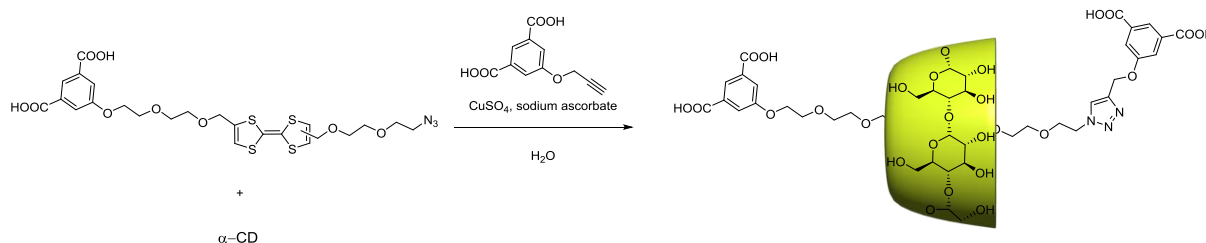


Schéma 2.3 : Rotaxation par CuAAC

Plusieurs types de réactions sont donc possibles pour la rotaxanation des pseudorotaxanes. Les conditions doivent être mises au point notamment le choix du bouchon qui est très important, et le milieu réactionnel. De plus ces quelques exemples montrent différents axes qui peuvent être utilisés.

2. Synthèses de rotaxanes modèles

a. Choix du bouchon

La réaction de rotaxanation envisagée étant la CuAAC, elle a été testée sur des petits rotaxanes comme modèles des polyrotaxanes. Pour cela, un diazoture dodécane a été préparé par réaction du dibromododécane avec l'azoture de sodium dans le DMF à 80°C. La rotaxanation a été, dans un premier temps, optimisée avec la CD native. Plusieurs conditions et notamment plusieurs bouchons ont été utilisés pour mener au rotaxane. Les bouchons qui ont été testés dans les conditions de CuAAC ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, PMDETA, ascorbate de sodium) sont décrits sur la Figure 2.14.

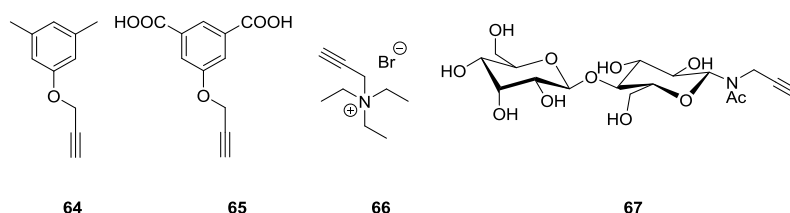


Figure 2.14 : Bouchons utilisés pour l'optimisation de la réaction de rotaxanation

Avec le dérivé du 3,5-diméthylphényle **64**, aucune réaction n'est observée entre l'alcyne du bouchon et les azotures de l'axe. Ceci peut être dû au fait que le bouchon ne soit pas soluble en milieu aqueux et que l' α -CD n'ait pas une cavité assez grande pour la solubiliser par inclusion du bouchon dans l' α -CD. L'ammonium **66** ne donne lieu à aucune réaction non plus. Ce bouchon est décrit dans la littérature pour la synthèse de PR. Nous avons appliqué les conditions décrites mais nous n'observons aucune réaction.^[112] En revanche avec le dérivé lactose, la formation du lien triazole est observé mais il semble d'après les analyses qu'aucune cyclodextrine ne se soit enfilée.

Le seul bouchon qui donne lieu à une réaction de rotaxanation est le dérivé du 3,5-dicarboxylate phényle **65** (Schéma 2.4). Pour cette synthèse le diazoture dodécane est mis en présence de CD, de sulfate de cuivre, et de PMDETA. Le bouchon est ensuite rajouté en

présence de carbonate de potassium, ce qui permet la formation du carboxylate et donc la solubilisation du bouchon. Le mélange réactionnel est agité pendant une quinzaine de minutes et il se trouble. Cela doit être dû à la formation du complexe d'inclusion entre l'axe et la CD. Ensuite l'ascorbate de sodium est rajouté et un [3]rotaxane **69** est ainsi obtenu avec un rendement de 30%. Il semblerait que d'après l'analyse des bruts réactionnels par spectrométrie de masse que cette réaction ne donne lieu qu'à la formation du [3]rotaxane et non du [2]rotaxane.

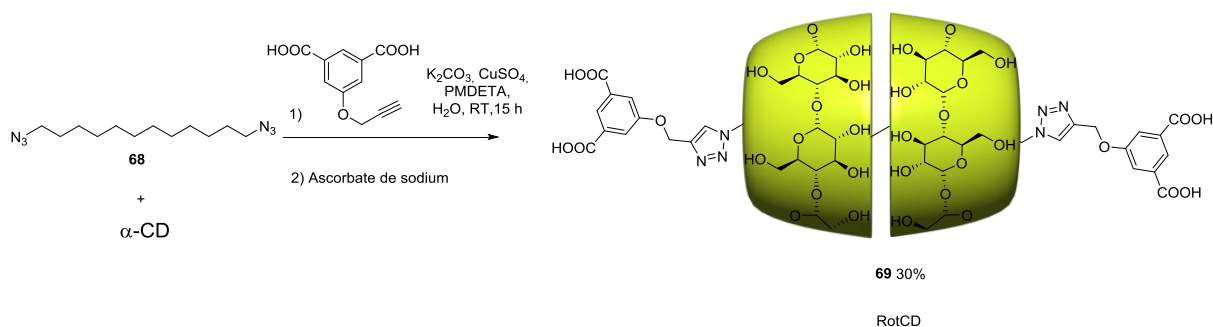


Schéma 2.4 : Synthèse du [3]rotaxane de CD.

Le [3]rotaxane de CD **69** a été caractérisé par différentes méthodes. Sur la superposition des spectres ^1H (Figure 2.15), on peut voir que les signaux de la CD libres sont modifiés quand celle-ci est enfilée. Les hydroxyles de la couronne secondaire notamment subissent des déplacements les plus importants. En effet si les couronnes sont l'une en face de l'autre les hydroxyles vont interagir entre eux pour former des liaisons hydrogène. La formation de ces liaisons hydrogène pourrait expliquer l'obtention du [3]rotaxane et non de [2]rotaxane. Ces liaisons viendraient stabiliser le pseudorotaxane intermédiaire (effet coopératif). La TROESY du système montre des pics de corrélation entre la CD et l'axe confirmant la formation du rotaxane. La DOSY du système a confirmée l'enfilage.

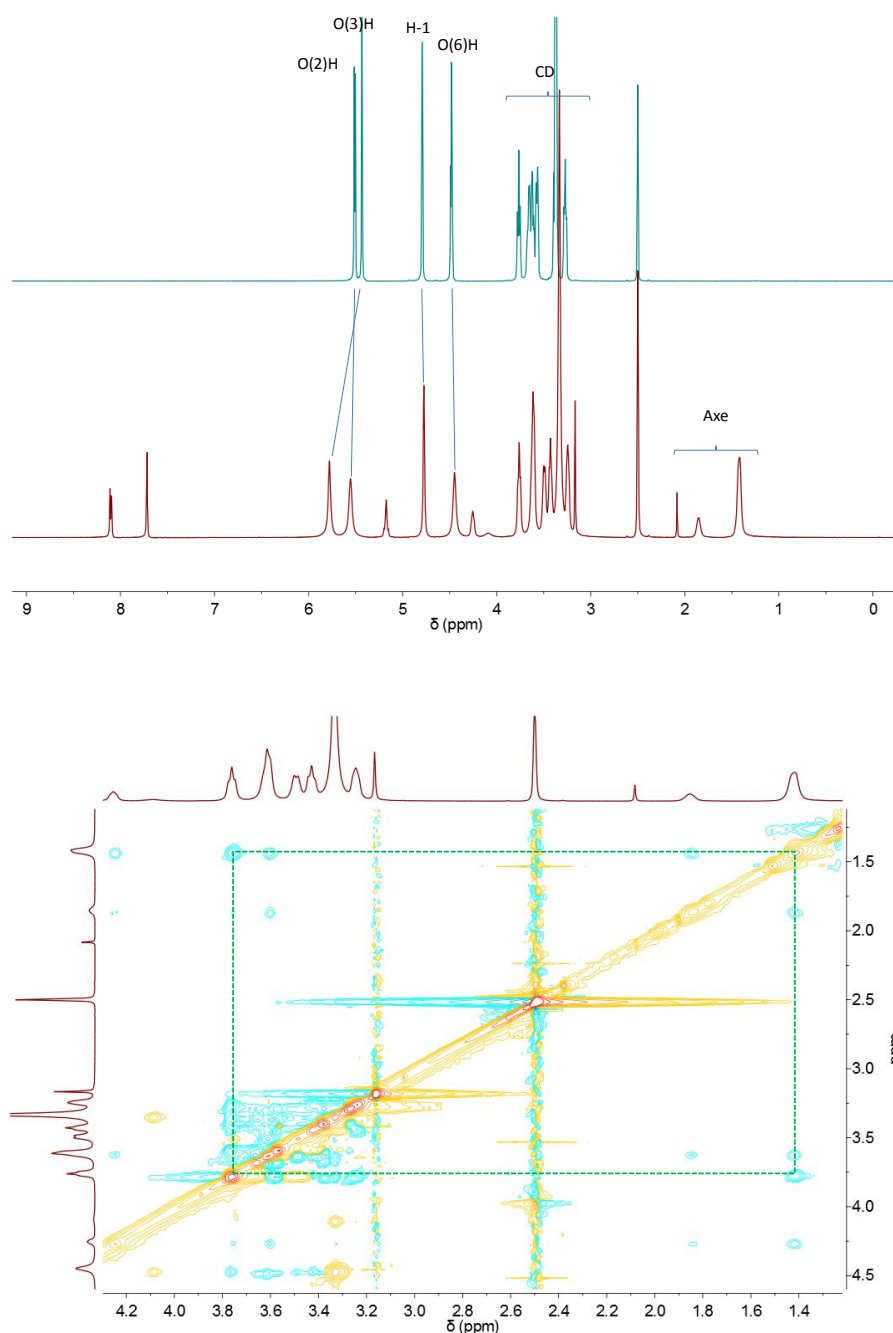


Figure 2.15 : RMN ^1H (600 MHz, DMSO) de la CD et celle du [3]rotaxane (haut) et TROESY du [3]rotaxane

b. Synthèse des rotaxanes fonctionnalisés

La synthèse de rotaxanes fonctionnalisés a ensuite été réalisée (Schéma 2.5). Tout comme pour la CD native, l'axe et les cyclodextrines (et tous les autres réactifs excepté l'ascorbate de sodium) sont introduits. Le mélange est agité pendant 15 min et l'ascorbate de sodium est rajouté. Un test a été réalisé avec 1 équivalent de CDLa pour un équivalent d'axe et un mélange de [2]rotaxane, [3]rotaxane et de CDLa libre a été obtenu. D'après la RMN ^1H du

brut le [3]rotaxane est le produit majoritaire. Ces rotaxanes ont été purifiés par chromatographie d'exclusion stérique.

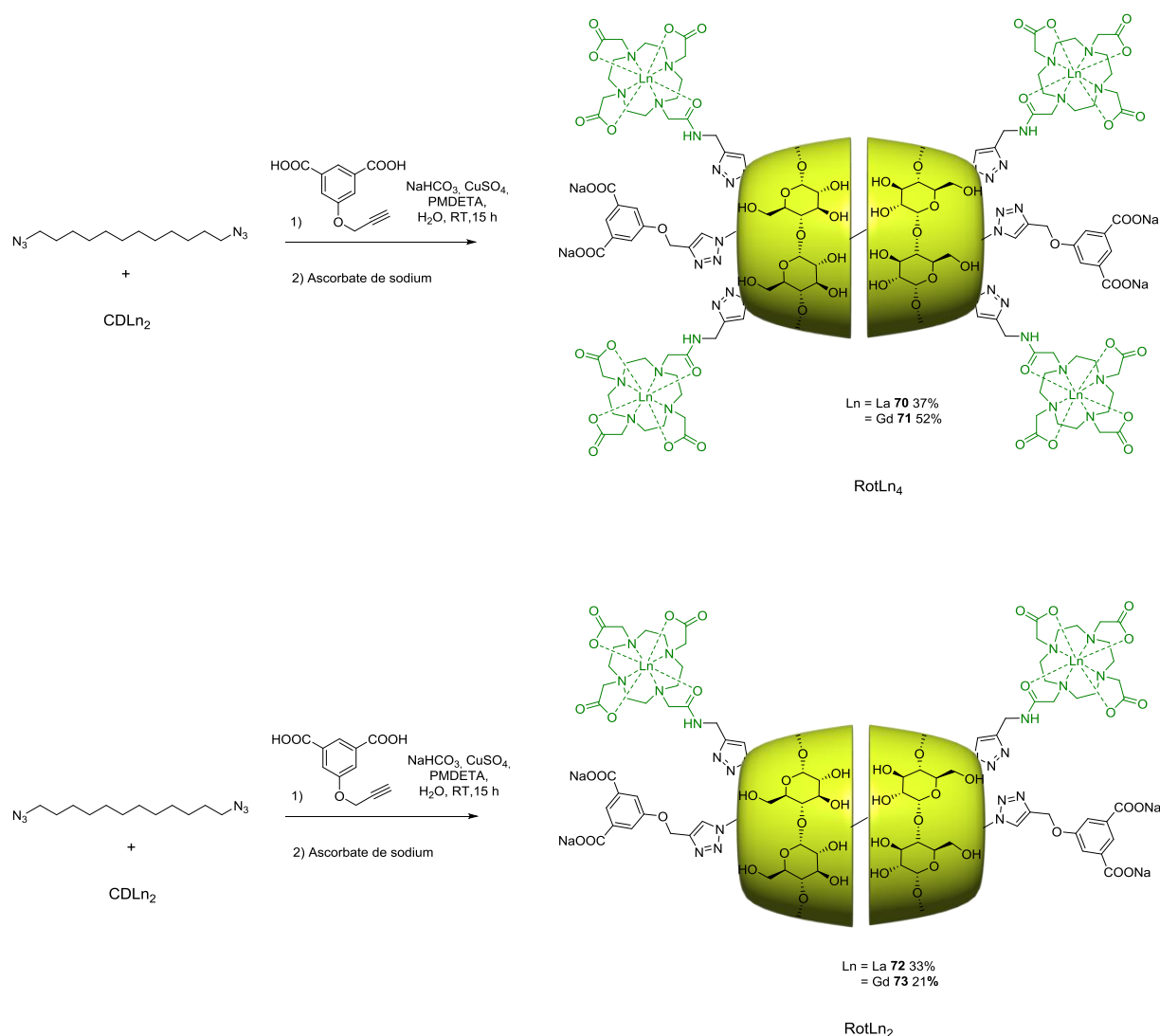


Schéma 2.5 : Synthèse des [3]rotaxanes de CDLa et CDLa₂

Ces [3]rotaxanes fonctionnalisés sont obtenus avec des rendements corrects. De plus il existe très peu d'exemples de rotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées dans la littérature. Ces rotaxanes ont été aussi totalement caractérisés par différentes méthodes (RMN, DOSY, spectrométrie de masse).

Le spectre TROESY présenté sur la Figure 2.16 montre une corrélation entre les protons de la cyclodextrine fonctionnalisée et les protons de l'axe (cadre orange) pour le composé RotLa **72** confirmant l'enfilage. La TROESY montre également que les protons des triazoles des CD ont un pic de corrélation avec les CH_2 portés par les bouchons. L'orientation de la

cyclodextrine dans le [3]rotaxane de façon à ce que les cols secondaires soient face à face est ainsi confirmée. Cette orientation peut être due aux liaisons hydrogène entre les hydroxyles de la couronne secondaire (comme dans le cas de la CD native). L'encombrement stérique des substituants portés par les CDs favorise aussi cette configuration.

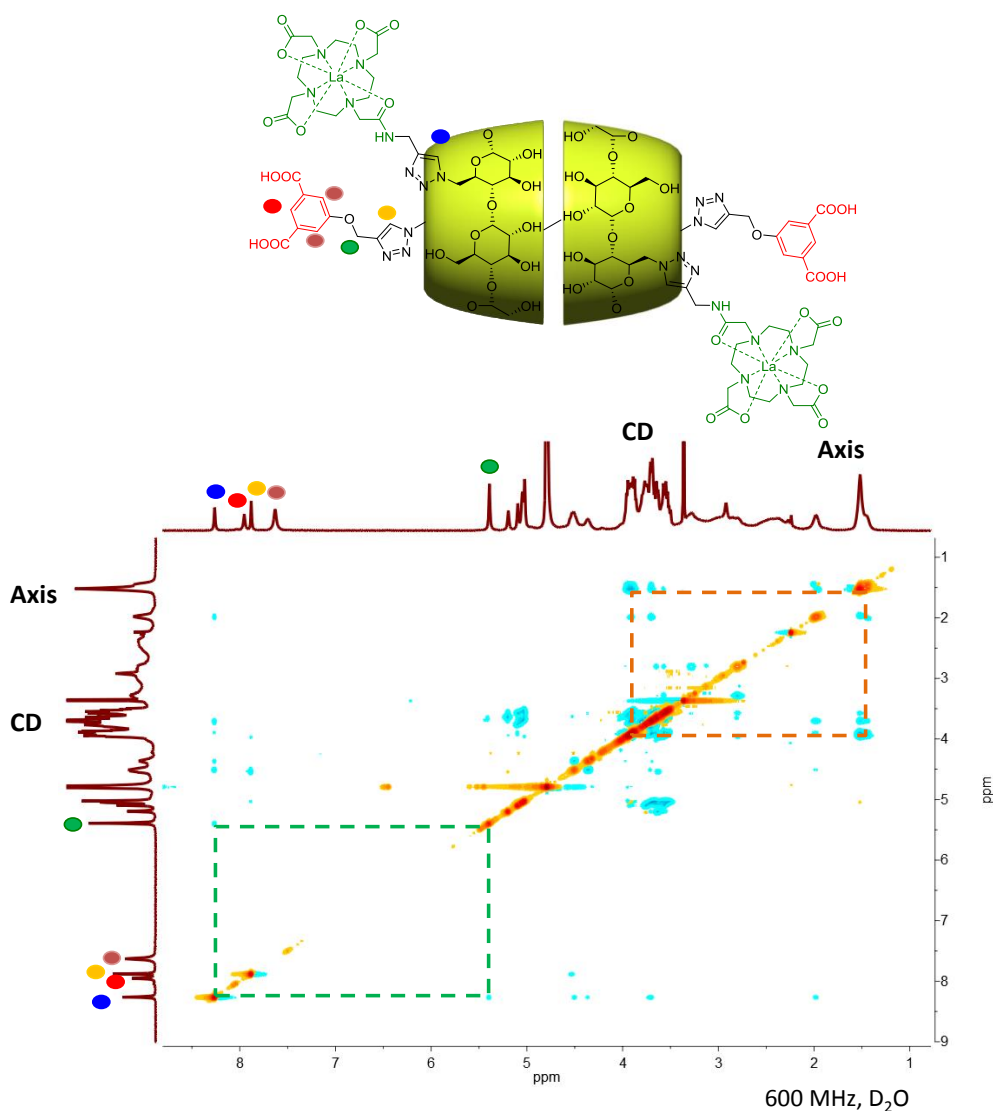


Figure 2.16 : TROESY (600 MHz, D₂O) du [3]rotaxane de CDLa

La DOSY présentée sur la Figure 2.17 confirme également que le rotaxane est bien formé. En effet, la représentation en 2D permet de voir que les protons de chaque élément du rotaxane (bouchons, axe et CD) diffusent à la même vitesse.

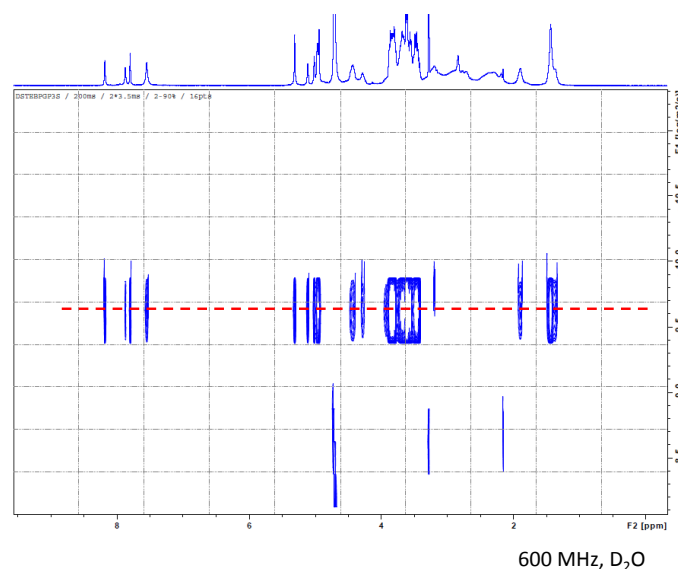


Figure 2.17 : Spectre ^1H RMN DOSY du rotaxane RotLa₂ **72**

c. Mesures de relaxivités avec les [3]rotaxanes de Gadolinium

Des mesures de relaxivité ont été réalisées avec les [3]rotaxanes de CDGd et CDGd₂ (Figure 2.18). Les différents rotaxanes entraînent une relaxivité plus importante qu'avec les cyclodextrines fonctionnalisées. L'augmentation de la taille apportée par l'architecture explique ce gain de relaxivité. De plus à haut champs (entre 10 et 100 MHz) une « bosse » caractéristique du comportement des macromolécules est observée. En effet dans cette gamme de champs, la fréquence de rotation des macromolécules tend vers la fréquence de Larmor du proton ce qui augmente la relaxivité.

Le RotGd₄ **71** présente une relaxivité plus importante que le RotGd₂ **73**. La diminution de la vitesse de rotation semble plus importante pour le RotGd₄ car la bosse est plus marquée ce qui est attendu puisqu'il est plus volumineux.

Comme cela a été détaillé dans le Chapitre 1, deux paramètres principaux influencent la relaxivité dans le cas de ces composés. Le premier est la vitesse de rotation des molécules en solution (v_{Rot}) et le second est la vitesse d'échange entre la molécule d'eau liée au complexe de Gadolinium et les autres molécules d'eau du solvant (v_{eau}). Une diminution de la vitesse de rotation et une augmentation de la vitesse d'échange de la molécule d'eau entraînent un gain de relaxivité.

En passant de 25°C à 37°C, une augmentation de la relaxivité est observée pour les rotaxanes. L'augmentation de la température à 37°C doit entraîner une augmentation de la vitesse d'échange de la molécule d'eau mais aussi de la vitesse de rotation de la molécule.

L'augmentation de ν_{eau} est suffisante pour compenser la perte par l'augmentation de ν_{Rot} . En revanche le passage à 50°C entraîne une baisse de la relaxivité. Les molécules tournent trop vite en solution ce qui se traduit par cette diminution de r_1 . Ce comportement convient bien à l'application envisagée pour l'imagerie du vivant qui nécessite une relaxivité maximale à la température du corps (37°C).

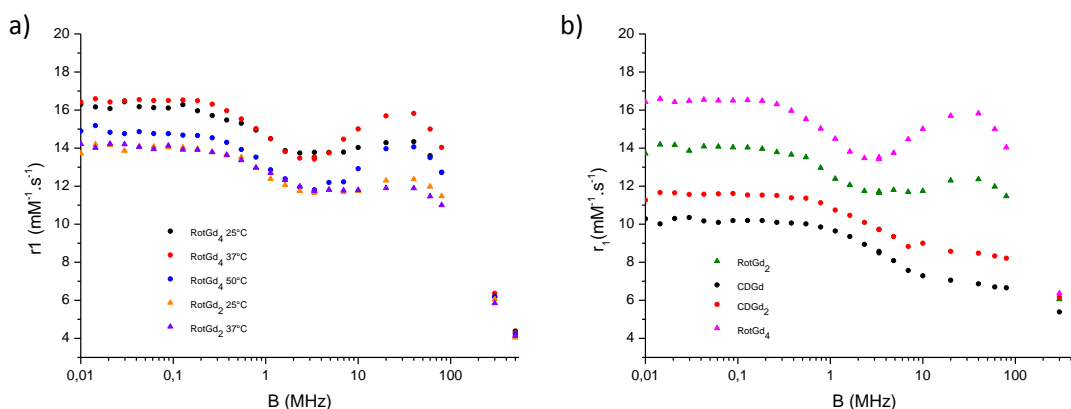


Figure 2.18 : Profil NMRD a) des RotGd et RotGd₂ à différentes températures et b) des RotGd, RotGd₂, CDGd et CDGd à 37°C

Le Tableau 2.3 résume les relaxivités des composés au Gd à 25°C et à 37°C à 60 MHz. Le gain de relaxivité par rapport au complexe DOTA commercial commence à être notable. On observe environ un facteur 4 entre le complexe seul et les rotaxanes.

Tableau 2.3 : Relaxivités (mM⁻¹.s⁻¹) avec les composés Gd à 25°C et 37°C à 60 MHz

	DOTA-Gd	CDGd	CDGd ₂	RotGd ₂	RotGd ₄
r₁ (à 25°C)	4,0	7,6	9,0	11,5	13,6
r₁ (à 37°C)	3,0	6,7	8,3	12,0	15,0

III. Synthèse d'oligorotaxanes

La synthèse d'oligorotaxanes a été envisagée. En effet, ces composés pourraient servir de structures intermédiaires entre les petits rotaxanes et les polyrotaxanes pour étudier et interpréter les propriétés. Comparé au polymère, on peut espérer un meilleur contrôle de la pureté notamment au niveau de la distribution d'anneaux sur l'axe. Il serait de plus intéressant d'évaluer le gain (notamment sur la relaxivité) des oligorotaxanes par rapport à celui des

polyrotaxanes. Il est possible que la flexibilité intrinsèque des polymères ait comme conséquence l'obtention de la même relaxivité entre un oligorotaxane et un polyrotaxane.

Pour cela la voie de synthèse présentée sur le Schéma 2.6 a été envisagée. Dans une première étape le couplage peptidique entre le 1,12-diaminododécane et l'acide bromoundécanoïque en présence d'EDCI et de DMAP pour donner le composé **74** est réalisé. Les fonctions amides de celui-ci sont ensuite réduites en présence de $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$. Des problèmes de solubilité sont déjà observés à cette étape. Les bromures sont substitués par des azotures pour avoir le composé **76** et les amines sont méthylées à l'aide de l'iodométhane pour avoir le trimère **77**. La synthèse de ce trimère n'a pas été évidente notamment à cause de la faible solubilité des oligomères qui ont rendu les purifications difficiles.

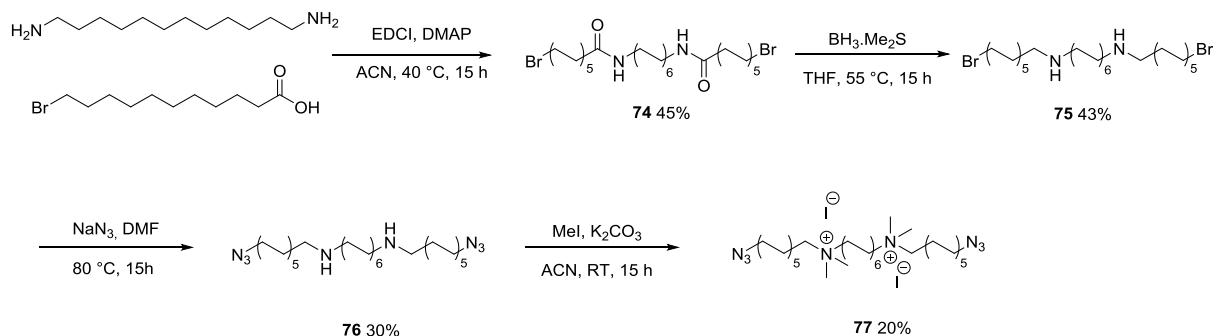


Schéma 2.6 : Synthèse du trimère ammonium

Des premiers tests d'enfilage et de couplage click de bouchons ont été réalisés. Dans un premier temps la CD native et l'axe ont été mélangés (3 équivalents de CD pour 1 éq d'axe) à température ambiante pendant 15 h et les réactifs pour le couplage click ont été introduits. Aucun rotaxane n'a été isolé. Un suivi RMN ^1H est réalisé pour vérifier que l'axe s'inclut bien dans la CD (Figure 2.20). Quand l'axe est mélangé à 1 équivalent de CD, les signaux protons sont très large ce qui montre qu'il y a formation d'agrégats en solution. Après l'ajout d'un deuxième équivalent de CD, les signaux s'affinent. 2 équivalents de CD par axe doivent entraîner la solubilisation du CI. En revanche aucun dédoublement des méthyles (à 3 ppm) n'est observé ; ceci laisse supposer que la position au milieu du trimère n'est pas occupée par la CD. 4 équivalents de CDs sont ajoutés au total et un chauffage à 60°C du mélange est réalisé. Un petit signal apparaît alors vers 3 ppm juste à côté des méthyles de l'axe. L'enfilage d'une CD sur la position au milieu du trimère est donc très lente d'une part à cause de la présence de pseudo-bouchons (les méthyles). D'autre part, comparé au monomère décrit dans la partie précédente la barrière énergétique à franchir est d'autant plus grande que la CD se

stabilise déjà quand elle s'enfile sur un monomère en périphérie du trimère (voir Figure 2.19) Ensuite un chauffage du milieu réactionnel à 75°C a été réalisé ; les méthyles de l'axe sont, au bout de 24 heures, complètement dédoublés ce qui montre qu'il y a une CD bien enfilée sur la position du milieu.

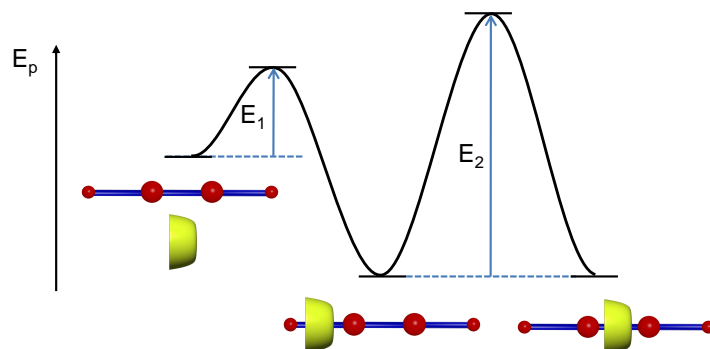


Figure 2.19 : Représentation schématisée du profil d'énergie potentielle pour l'enfilage de la CD sur l'axe **77**

En accord avec cette étude, il faut donc chauffer au moins à 75°C le mélange d'axe trimérique et de CD avant d'introduire les bouchons et les réactifs de bouchonnage. Cependant les réactions de rotaxanation qui ont été réalisées après une période de chauffage n'ont pas conduit au résultat escompté. La spectrométrie de masse des bruts réactionnels ne montre pas la présence de rotaxanes. La faible quantité de produit et la difficulté d'accès ne nous ont pas permis de réaliser d'autres tests.

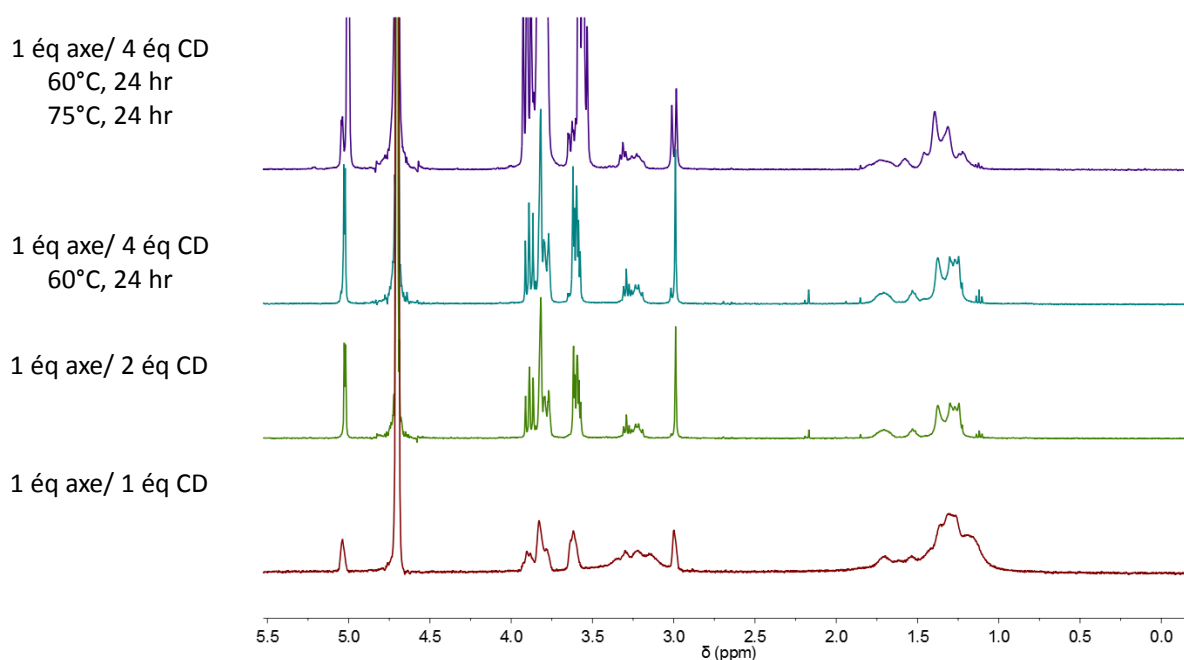


Figure 2.20 : RMN ^1H (400 MHz, D_2O) du trimère **77** en présence de CD dans différentes conditions

La synthèse du trimère perméthylé a été également réalisée selon la séquence réactionnelle du Schéma 2.7. La différence avec la voie de synthèse précédente est la présence de fonction amines à la place du brome.

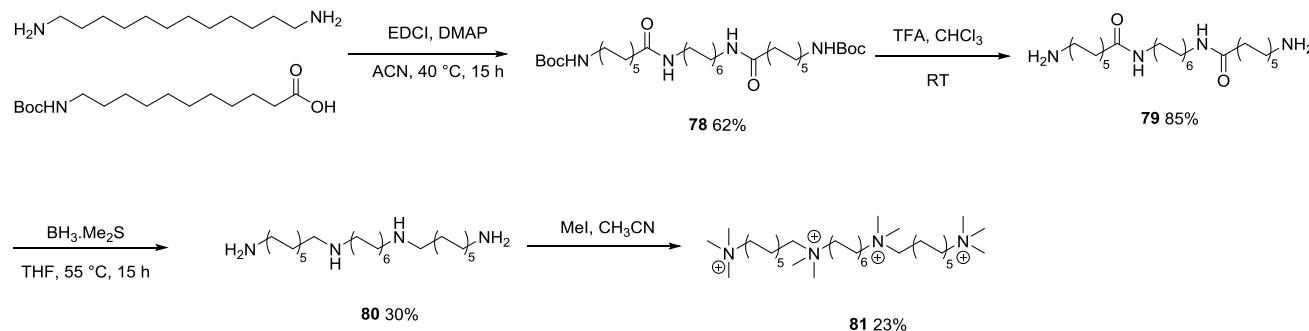


Schéma 2.7 : Synthèse du trimère perméthylé

Un test d'enfilage avec la CD native a été réalisé. Dans un premier temps le trimère perméthylé est mélangé avec 3 équivalents de CD. Après une journée l'enfilage semble ne plus évoluer. Pour déplacer l'équilibre plus rapidement le mélange est chauffé à 80°C pendant 2 jours. L'équilibre est atteint. 3 équivalents de CD natives supplémentaires sont ensuite rajoutés et un déplacement de l'équilibre est observé. En comparaison avec le monomère (le diaminododécane perméthylé) l'enfilage est beaucoup plus lent. En effet pour introduire une CD sur la chaîne alkyle qui se trouve au milieu de l'axe **81** la barrière énergétique pour passer des unités en périphérie est plus haute que si la CD passe de la solution à l'axe (Figure 2.21).

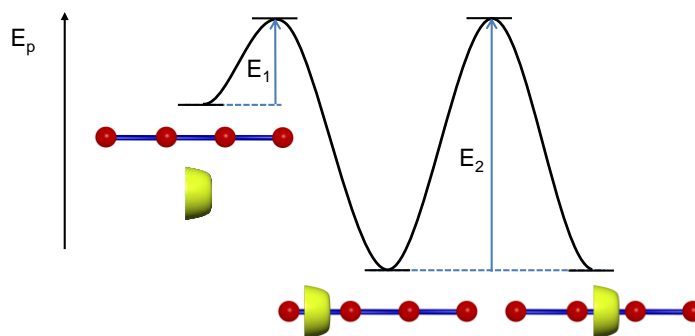


Figure 2.21 : Représentation schématique du profil d'énergie potentielle pour l'enfilage de la CD sur l'axe **81**

L'enfilage est très lent et nécessite donc un chauffage long. L'isolation du rotaxane est délicate, en effet plusieurs isomères sont obtenus comme on peut le voir sur la RMN vers 3 ppm.

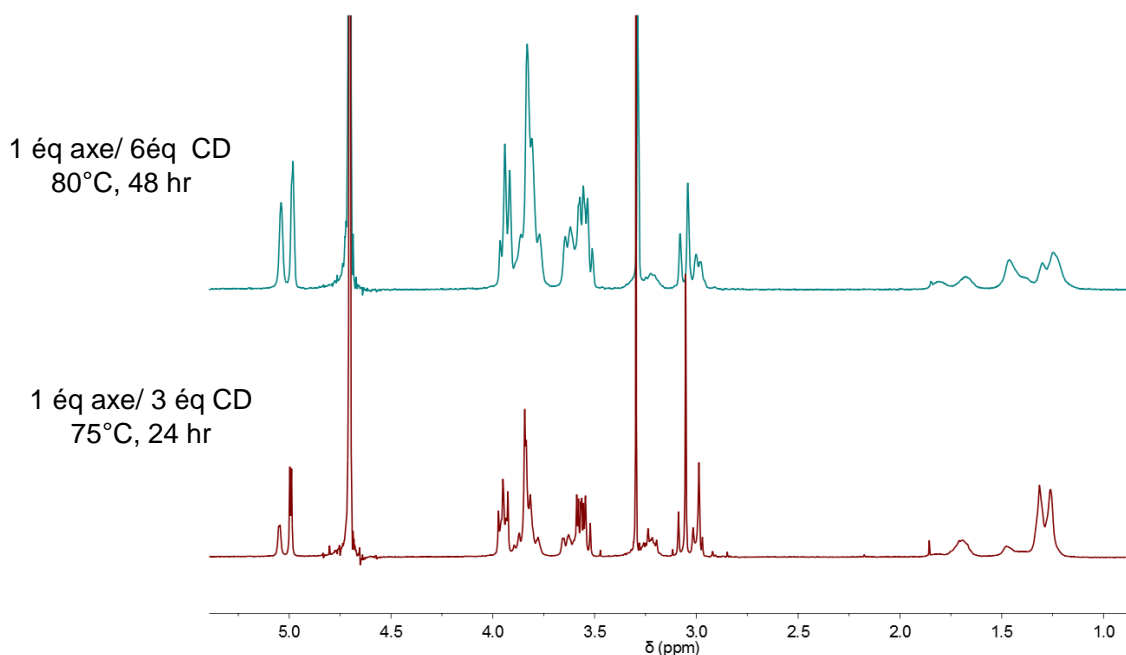


Figure 2.22 : RMN ^1H (400 MHz, D_2O) du trimère **81** en présence de 3 équivalents de CD ou 6 équivalents

On peut donc noter la complexité des signaux à 3 ppm représentant les méthyles de l'axe qui peut s'expliquer par la présence d'isomères. Trois populations de rotaxane peuvent apparaître (Figure 2.23). Une étude approfondie permettrait de voir la distribution de ces trois types de rotaxane. L'étude avec une CD fonctionnalisée pourrait aussi être intéressante mais encore plus complexe à interpréter du fait de la multiplication des signaux des CDs.

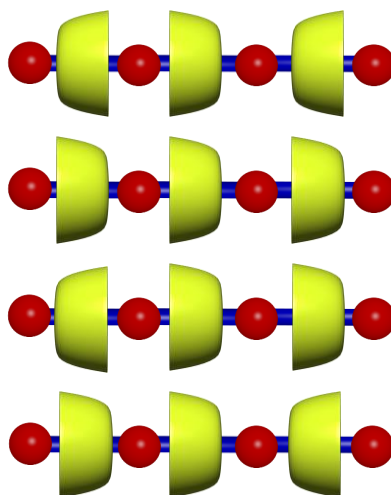


Figure 2.23 : Types de [4]rotaxane pouvant se former avec le trimère perméthylé **81**

En conclusion, la synthèse d'oligomères n'est pas évidente car de nombreux problèmes de solubilité ont été rencontrés ce qui rend la purification des produits laborieuse. Une optimisation de la synthèse est nécessaire afin de pouvoir isoler les oligorotaxanes et envisager l'incorporation de CD fonctionnalisées.

IV. Conclusion

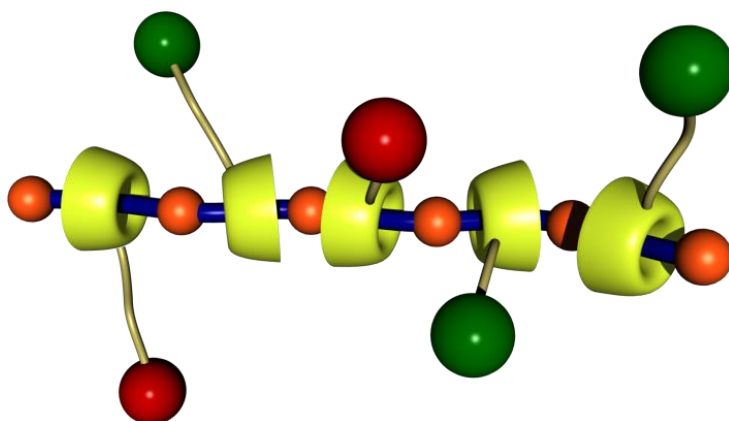
Dans cette partie, nous avons montré que le monomère de la polyamine ainsi que celui du polyammonium ont une constante d'affinité plus importante pour les CDs que l'oligoéthylèneglycol. Nous pouvons supposer à la vue de ces résultats que les polyamines et polyammoniums s'incluront plus facilement dans la CD pour former des polyrotaxanes que le PEG. Les différentes cyclodextrines fonctionnalisées ont la même constante d'association avec un axe ammonium perméthylé et s'enfilent avec une vitesse comparable à la CD native. Ce point est important pour préparer ultérieurement des polyrotaxanes mixtes qui comporteront différentes CD. Il faut en effet éviter la complexation prioritaire d'une seule CD à partir d'un mélange.

De plus, nous avons été capables de synthétiser des [3]rotaxanes de CD, CDLn et CDLn₂. Il existe dans la littérature très peu d'exemples de rotaxanes de CDs portant des fonctionnalités aussi encombrées obtenus par une réaction « one pot ». L'incorporation des CDGd dans une architecture supramoléculaire contribue à l'augmentation significative de leur relaxivité en particulier à haut champs.

Des études préliminaires sur les oligomères montrent que l'enfilage de la CD native est très lent, un facteur important à prendre en compte pour mettre au point les conditions de préparation des polyrotaxanes. Il serait intéressant de pouvoir faire la synthèse d'oligorotaxanes de CDLn ou CDLn₂ pour regarder leurs propriétés en tant qu'agent pour l'IRM, mais cette tâche se heurte à de la faible solubilité des produits testés.

Chapitre 3

Polyrotaxanes Bimodaux



Dans cette partie nous nous intéresserons à la synthèse de polyrotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées. Après avoir rappelé les différentes stratégies de synthèse de ces polyrotaxanes décrites dans la littérature, nous présenterons celle adoptée pour nos polyrotaxanes de CDs fonctionnalisées. D'après les résultats de la partie précédente, les polyamines et polyammoniums avec des chaînes alkyles en C₁₂ devraient s'enfiler dans les cyclodextrines plus facilement que le PEG.

I. Polyrotaxanes avec un axe PEG

1. Généralités

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, différents axes polymériques peuvent former des complexes d'inclusion avec l' α -cyclodextrine. Ce phénomène a été observé et mis en évidence pour la première fois par Harada en 1990.^[113] Après avoir mélangé du PEG et de la CD la formation d'un précipité est observée après quelques temps à température ambiante. Cette précipitation est due à la formation de liaisons hydrogènes entre les CDs enfilées sur l'axe. Les groupes hydroxyles ne sont alors plus disponibles pour les liaisons hydrogène avec l'eau. Plusieurs polymères peuvent s'inclure dans la CD, mais la plupart de ces complexes d'inclusion (polypseudorotaxanes) ne sont pas solubles en milieu aqueux.

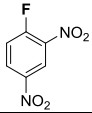

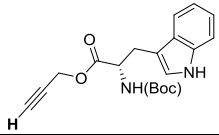
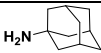
Il existe deux stratégies principales pour la synthèse de polyrotaxanes de CD et de PEG en un seul pot ou en deux pots. Dans la stratégie en deux étapes, le PEG et la CD sont mélangés dans l'eau. L'apparition d'un précipité est observée qui correspond à la formation de polypseudorotaxanes. Le précipité est isolé et ensuite mis en réaction avec les bouchons et les réactifs de bouchonnage dans un autre solvant (souvent la DMF et le DMSO) pour obtenir le polyrotaxane. Le problème de cette stratégie est que la CD peut se désenfiler dans ce type de solvants (DMSO et DMF). La réaction de bouchonnage doit donc être très rapide pour qu'un minimum de CDs ne se désenfile.

Dans la stratégie en un seul pot, après avoir formé le polypseudorotaxane, les réactifs pour le bouchonnage sont ajoutés directement à la solution aqueuse pour obtenir le PR. La réaction de bouchonnage doit donc être compatible avec l'eau.

Plusieurs réactions de bouchonnage (et plusieurs bouchons) ont été développées pour la synthèse de polyrotaxanes. Le Tableau 3.1 résume les réactions et les bouchons décrits dans la littérature pour la stratégie en un seul ou deux pots. Ainsi la connexion des bouchons peut être obtenue par substitution nucléophile aromatique,^[114] substitution nucléophile,^[115] couplage peptidique^[116] et réaction de CuAAC.^[117]

La quantité de CD enfilées varie selon les systèmes étudiés. Une cyclodextrine recouvre deux unités éthylène glycol. On définit le taux de recouvrement par le pourcentage de monomères qui est recouvert (le monomère étant une unité éthylène glycol). Les petits PEG ($MM < 2000 \text{ g.mol}^{-1}$) ont généralement un taux de recouvrement supérieur à celui des PEG avec de grandes masses molaires. On peut supposer que les pseudo-rotaxanes formés avec les grands PEG précipitent avant le recouvrement total du polymère. Il est donc difficile de préparer de longs PR à base de PEG avec beaucoup de CD enfilées.

Tableau 3.1 : Exemples de bouchons utilisés pour les polyrotaxanes de PEG

MM du PEG (g.mol^{-1})	Groupe terminal du PEG	Bouchons	% de recouvrement
20000	-NH ₂		31
20000	-OTs		20
1500	-N ₃		75
35000	-COOH		22

La réaction de bouchonnage nécessite des aménagements fonctionnels au niveau des groupements terminaux des PEG. Ainsi, la fonctionnalisation de PEG par des azotures a été planifiée dans notre cas dans le but d'utiliser une réaction de type CuAAC pour cette réaction de bouchonnage.

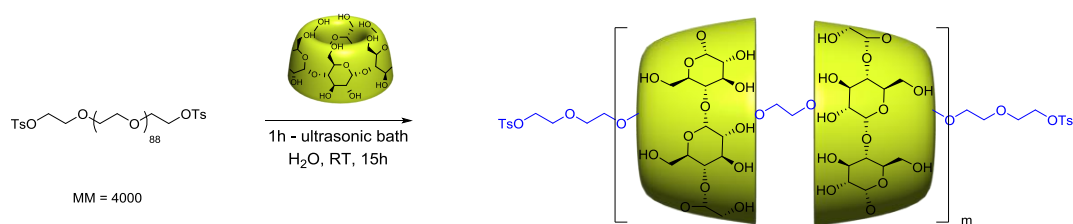
2. Synthèse de polyrotaxanes à base de PEG

a. Avec l' α -CD native

Dans un premier temps, nous avons tenté de reproduire la synthèse d'un polyrotaxane à base de α -CD d'après les conditions décrites dans la littérature (Schéma 3.1).^[115] Du poly(éthylène glycol) avec une masse molaire de 4000 g.mol^{-1} portant des groupes tosylates aux extrémités et de la CD sont introduits dans l'eau dans un rapport 1:32 (PEG:CD). Cette quantité est suffisante pour couvrir 70% de l'axe. La solution est limpide au début de l'enfilage puis, au bout de quelques minutes, le mélange se trouble et un précipité apparaît. Cela correspond à la formation d'un pseudopolyrotaxane. Le précipité est bien séché pour

enlever le maximum d'eau qui pourrait réagir avec le bouchon phénolate. Le pseudopolyrotaxane est ensuite rajouté à une solution de 2,5-diméthylphénolate de sodium dans la DMF. Le polyrotaxane est isolé par reprécipitation en plusieurs fois avec du DMSO (pour la solubilisation) et de l'eau (pour la précipitation). Ce polyrotaxane n'est soluble que dans le DMSO et le DMF ce qui limite grandement son utilisation biomédicale.

Threading



End capping

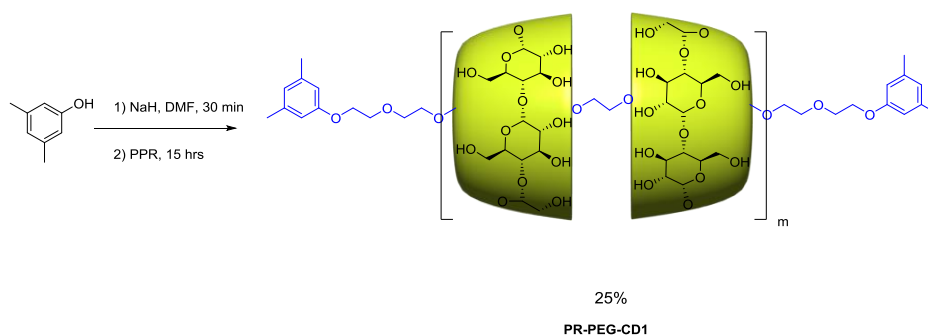


Schéma 3.1 : Synthèse du polyrotaxane PR-PEG-CD1

Les spectres RMN ^1H de la CD libre et du polyrotaxane superposés sont présentés dans la Figure 3.1. On peut remarquer un élargissement des pics des protons de la CD dû à l'enfilage ainsi qu'une légère modification de leurs déplacements chimiques (en particulier pour les protons des hydroxyles). Le spectre DOSY (Figure 3.1) montre clairement que les cyclodextrines et l'axe diffusent à la même vitesse ce qui prouve que le polyrotaxane est bien formé. Ce PR-PEG-CD-1 a été isolé avec un rendement de 25% et avec un taux d'enfilage de 35%.

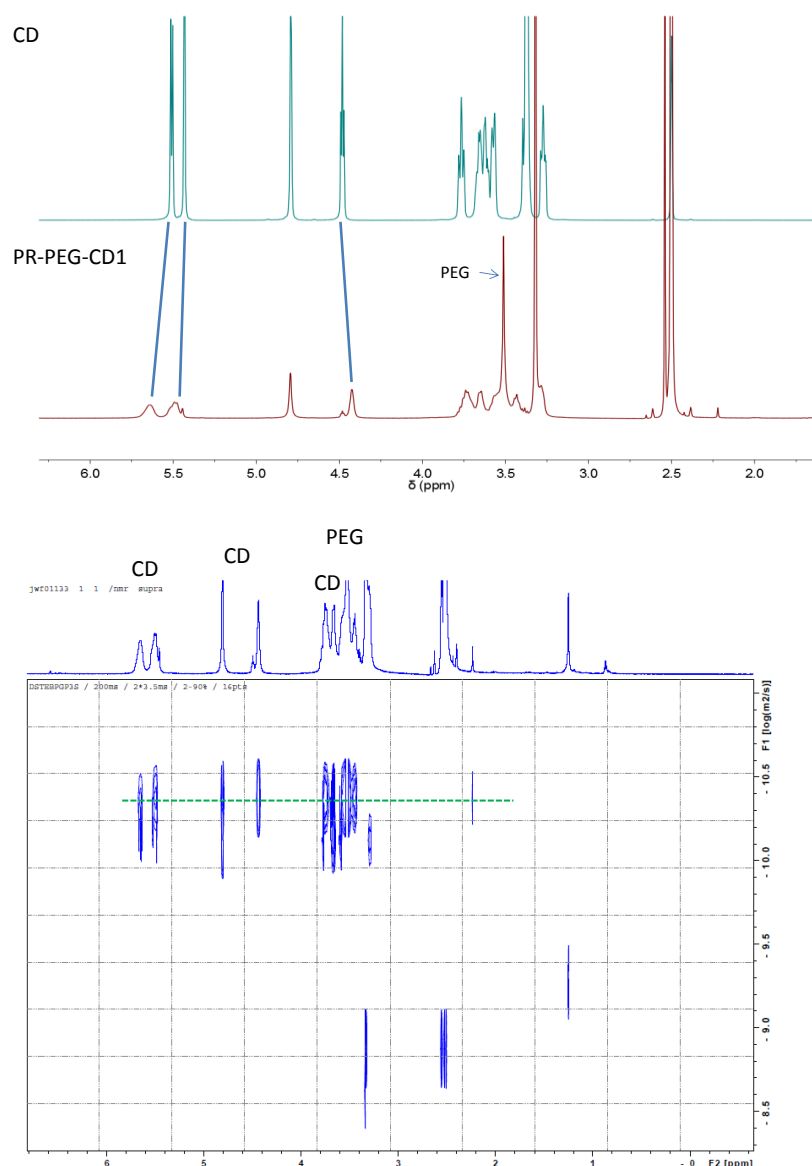
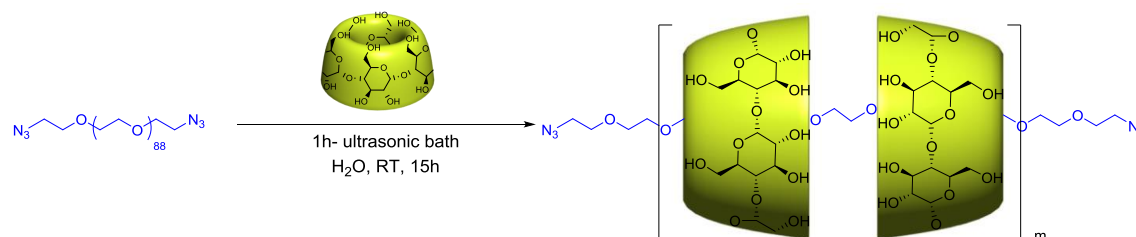


Figure 3.1 : Superposition des spectres RMN ^1H (600 MHz, DMSO) de l' α -CD et du PR-PEG-CD1 (haut) et DOSY du PR-PEG-CD1 (bas).

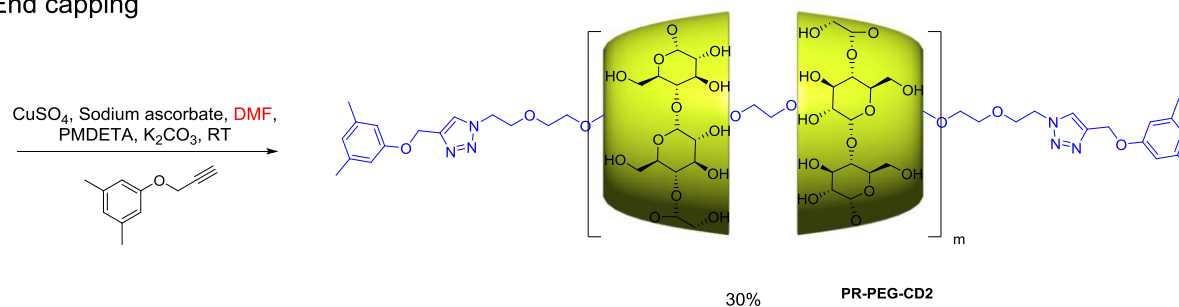
Cette stratégie donnant lieu à un faible taux d'enfilage et nécessitant des conditions réactionnelles assez dures (grande concentration en phénolates) nous avons envisagé une synthèse de PR utilisant une réaction de bouchonnage par CuAAC (Figure 3.2). Il faut alors synthétiser un PEGbisN₃. Les CDs sont enfilées et les bouchons, portant une fonction alcyne, sont connectés par une réaction de CuAAC pour donner le PR. La synthèse peut se faire en un seul ou en deux pots. La synthèse du PEGbisN₃ est réalisée à partir du PEG tosylé par une substitution nucléophile avec l'azoture de sodium. Le PR-PEG-CD2 a été synthétisé en deux étapes et obtenu avec un rendement de 30% et un taux d'enfilage de 50%. La synthèse en un seul pot a également été testée avec un bouchon lactose hydrosoluble. Le PR-PEG-CD3 est

isolé avec un rendement d'uniquement 10% et un taux d'enfilage de 52%. Le faible rendement obtenu peut être expliqué la faible solubilité du PPR dans l'eau. Nous avons toutefois retenu cette méthode pour préparer des PR avec des CDs fonctionnalisés. En effet, les substituants sur les CD empêcheront à priori un enfilage trop compact, et on peut espérer une meilleure solubilité des PPR avec des CD fonctionnalisés.

Threading



End capping



End capping

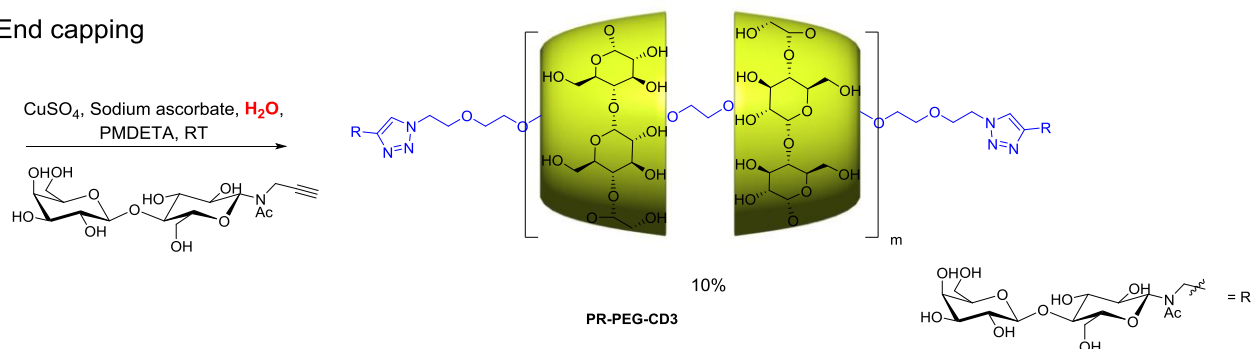


Figure 3.2 : Synthèse du PR-PEG par CuAAC

Les enfilages sont confirmés par RMN DOSY. Un exemple de spectre est présenté sur la Figure 3.3 où on peut voir que les signaux des CDs et du PEG diffusent à la même vitesse.

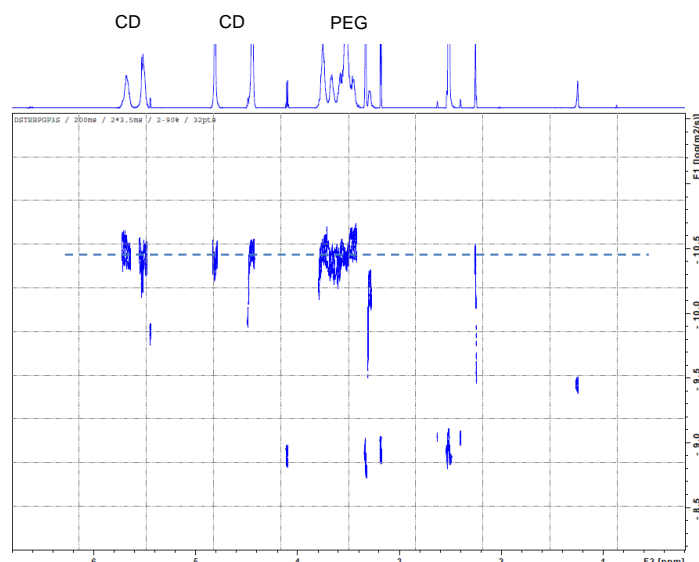


Figure 3.3 : DOSY (600 MHz, DMSO) d'un PR-PEG-CD2

b. Avec les CDs fonctionnalisées

Après avoir optimisé la synthèse du PR avec la CD native nous avons tenté la synthèse de polyrotaxanes à base de PEG avec des cyclodextrines fonctionnalisées. Deux CDs ont été testées : la CDLa et la CD-Ant-La (Schéma 3.2). En utilisant les mêmes conditions opératoires que pour la CD native, la formation de polyrotaxanes avec ces CDs fonctionnalisées n'a cependant pas été observée. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cela. Comme nous l'avons vu dans le Chapitre 2, les constantes d'association de la CD ou de la CDLa pour l'unité monomérique modèle sont très faibles. Pourtant avec la CD native la synthèse de rotaxanes a été observée. Cette différence peut s'expliquer par le déplacement de l'équilibre entre le PPR et ses constituants par la précipitation de l'assemblage.

Dans le cas des cyclodextrines fonctionnalisées, aucun précipité n'apparaît lors du mélange avec le PEG. Seul un léger trouble de la solution est observé. On peut supposer que les substituants volumineux sur les CDs empêchent la formation du réseau de liaisons hydrogène intermoléculaires et la précipitation du PPR. Ceci peut expliquer le faible nombre d'exemples de polyrotaxanes de PEG avec des CDs fonctionnalisées décrits dans la littérature.^[51, 55] Dans ces exemples, il s'agit de petits substituants, comme les azotures, qui ne doivent pas perturber grandement la formation des liaisons hydrogène entre les CDs. En outre, l'importance de ces liaisons justifie que la formation de complexes d'inclusion n'est pas favorisée avec le « monomère » mini-PEG du Chapitre 2.

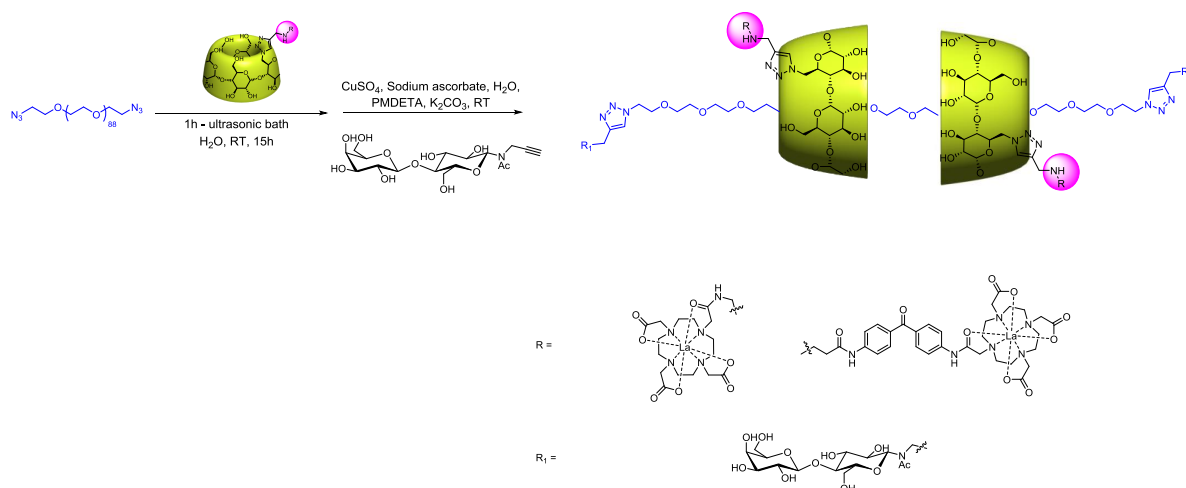


Schéma 3.2 : Tentative de synthèses de PR-PEG-CD fonctionnalisées

Une alternative viable pour la synthèse de polyrotaxane de PEG de CDs fonctionnalisées est la stratégie de post-fonctionnalisation. Cette voie n'a pas été privilégiée car l'approche modulaire serait en effet perdue. De plus la faible solubilité dans l'eau des PR-PEG-CD nous a encouragé à envisager l'utilisation d'autres axes polymériques tels que les polyammoniums dont les PRs restent solubles dans l'eau.

II. Polyrotaxanes avec un axe polyammonium

1. Généralités

Les polymères bola-amphiphiles peuvent aussi former des polyrotaxanes avec la CD. Différents axes donnent lieu à un enfilage.^[96] Les fragments hydrophobes étant indépendants chaque CD enfilée est isolée et ne peut former de liaisons hydrogènes intermoléculaires. Les édifices formés restent donc solubles dans l'eau.

Le groupe de G. Wenz a été le premier à décrire la formation des pseudopolyrotaxanes avec des polyamines.^[46] Ils ont utilisé plusieurs polyamines (Figure 3.4). Pour des raisons de solubilité la polyamine est mise en milieu tampon légèrement acide (pH = 4,6). Les amines protonées empêchent la formation de liaisons hydrogène entre les cyclodextrines d'un même PR et ainsi leur agrégation. Les polypseudorotaxanes formés restent alors solubles en milieu aqueux contrairement au PPR de PEG.

Des groupements stériquement un peu plus encombrants peuvent être introduits sur les amines comme des groupements méthyles ou N-oxydes. Ils jouent alors le rôle de pseudo-bouchons et augmentent le temps d'enfilage et de dissociation. Du coup les enfilages doivent

être réalisés à une température plus élevée pour atteindre l'équilibre thermodynamique dans un temps raisonnable.

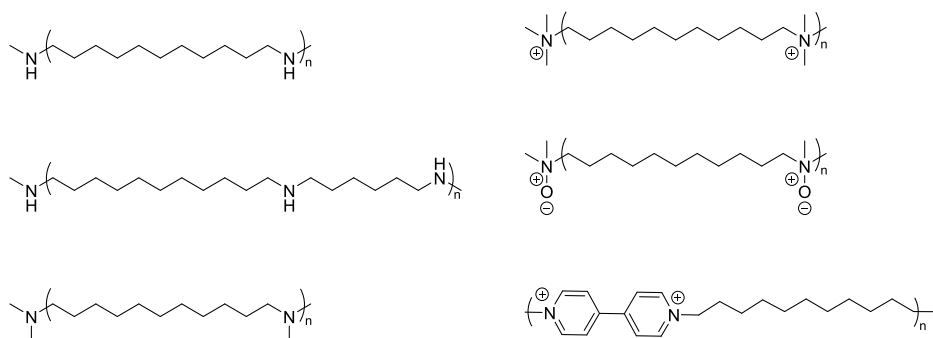


Figure 3.4 : Polyamines et polyammoniums pouvant faire des polyrotaxanes avec des CDs^[118, 119]

2. Axe polyamine protoné

Au départ, nous avons envisagé la synthèse de polypseudorotaxanes avec un axe polyamine protonée. La polyamine est préparée à partir du polyamide-11 (Nylon 11) commercial par réduction des fonctions amides avec du $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$. La polyamine est mise dans une solution tampon d'acide acétique à 0,1 mM pour imposer un pH de 4,6. A priori, à ce pH toutes les amines sont protonées. La polyamine qui au départ est insoluble dans l'eau devient soluble dans la solution tampon. La CD native, la CDLa et la CD-Bod1 sont respectivement ajoutées au mélange à température ambiante pour former les PPR correspondants avec 1 équivalent de CD par unité monomérique (Schéma 3.3).

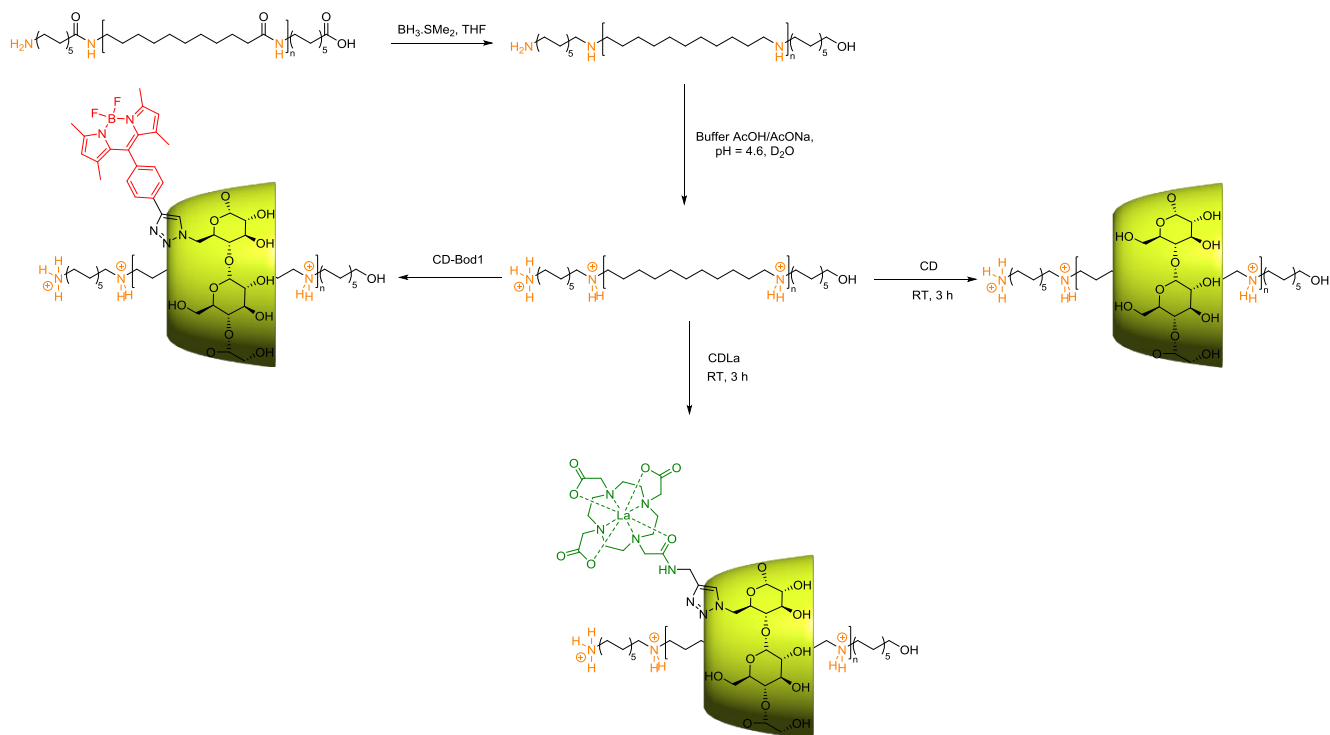


Schéma 3.3 : Enfilage de CDs sur une polyamine protonnée

Avec la CD-Bod1, un précipité est observé. L'enfilage de la CD-Bod1 sur la polyamine protonnée a pu entraîner la précipitation du polypseudorotaxane par la formation d'agrégats qui sont insolubles dans l'eau. En effet les deux composées sont solubles quand ils sont séparés. Pour la cyclodextrine native et la CDLa tout reste en solution et une étude par RMN ^1H et NOESY a été réalisée. Sur le spectre RMN ^1H du PPR avec la CDLa, les signaux correspondant à l'axe subissent notamment des modifications importantes (Figure 3.5). Dans la région entre 1 et 2 ppm correspondant aux protons du centre de la chaîne aliphatique de nouveaux signaux plus déblindés apparaissent ce qui montre une interaction entre la CDLa et l'axe. L'enfilage est confirmé par la présence de pics de corrélation dans le spectre NOESY entre les protons de la CDLa pointant vers l'intérieur de la cavité (H-5 et H-3) et l'axe polymérique. Ceci confirme que les CDs fonctionnalisées peuvent s'enfiler sur les polyamines. L'enfilage semble très rapide car un suivi cinétique a été réalisé et il semble que l'équilibre soit atteint au bout de quelques minutes. Les amines protonnées ne sont pas assez encombrées pour que l'enfilage des CDs devienne lent ce qui fait que l'équilibre est atteint rapidement.

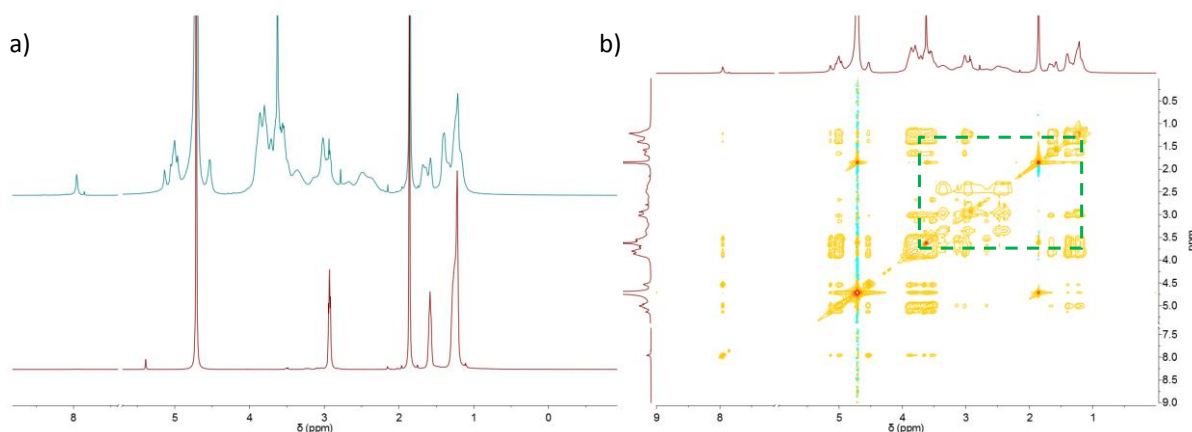


Figure 3.5 : a) RMN ^1H (600 MHz, D_2O) de la polyamine protonée superposé au PPR de CDLa et b) NOESY (600 MHz, D_2O) du polypseudorotaxane

Cependant, plusieurs problèmes se posent avec ces polypseudorotaxanes. En effet l'isolement et la purification de ces derniers est difficile car les groupements ammonium qui jouent le rôle de pseudo-bouchons ne sont pas assez volumineux et permettent un désenfilage rapide. Ainsi toute tentative de purification pour enlever les CDs libres conduira à un désenfilage des CDs enfilées (déplacement de l'équilibre). De plus, la solubilité des édifices est dépendant du pH qui doit être relativement acide ce qui peut être contraignant pour d'éventuelles mesures *in vitro* voire *in vivo*. Néanmoins nous avons pu montrer avec cette étude sur les polyamines protonées que l'enfilage d'une CD fonctionnalisée (ici la CDLa) est possible. La méthylation du polyamine a été réalisée pour s'affranchir des problèmes que la simple protonation de la polyamine peut générer.

3. Axe polyammonium perméthylé

a. Etude avec de la cyclodextrine native

La méthylation de la polyamine est obtenue par action de l'iodure de méthyle dans le méthanol. Avant d'introduire les CDs fonctionnalisées une étude est réalisée sur la CD native en s'inspirant de la littérature.^[46] Le polyammonium est introduit dans D_2O en présence de CD (1 équivalent de CD par unité de monomère). Ensuite le mélange est chauffé à 60°C et un suivi cinétique par RMN ^1H est réalisé (Schéma 3.4).

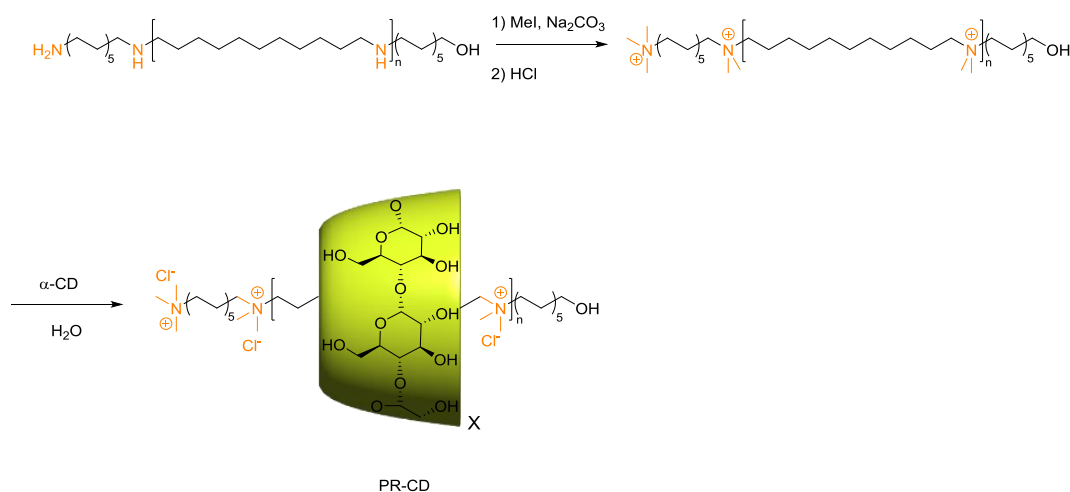


Schéma 3.4 : Synthèse du polyammonium méthylé du polypseudorotaxane de CD

Dans le suivi RMN présenté sur la Figure 3.6, les signaux des protons des CDs enfilées peuvent être facilement différenciés de ceux des CD libres (en particulier pour les protons anomériques aux alentours de 5,1 ppm). L'intensité du pic le plus déblindé qui augmente au cours du temps correspond à la CD enfilée tandis que celui qui diminue correspondant à la CD libre. Comme pour ce qui a été observé pour le monomère les méthyles se différencient (dans la région de 3 ppm) passant d'un singulet à des signaux un peu plus complexes. En effet comme cela a été montré pour le trimère perméthylé dans le Chapitre 2, les cyclodextrines ne se mettent pas dans un seul sens. Plusieurs possibilités existent d'où la complexité de ces signaux. La valeur de l'intégration du pic des protons anomériques de la CD enfilée en fonction du temps est reportée sur le graphe de la Figure 3.6. La cinétique d'enfilage est très lente puisque l'équilibre (50% de taux de recouvrement du polymère) semble être atteint à 60°C au bout d'une vingtaine de jours par rapport à la polyamine protonée où l'équilibre est atteint au bout de quelques minutes. Comme prévu, les méthyles des ammoniums qui sont plus volumineux augmentent la barrière énergétique pour l'enfilage. De plus un phénomène qui pourrait être qualifié « d'embouteillage de CD » apparaît. Il faut que les premières CDs diffusent vers le centre du polymère pour que les autres puissent s'enfiler. Les ammoniums méthylés, qui sont encombrés, rendent ce phénomène plus important que les amines protonées.

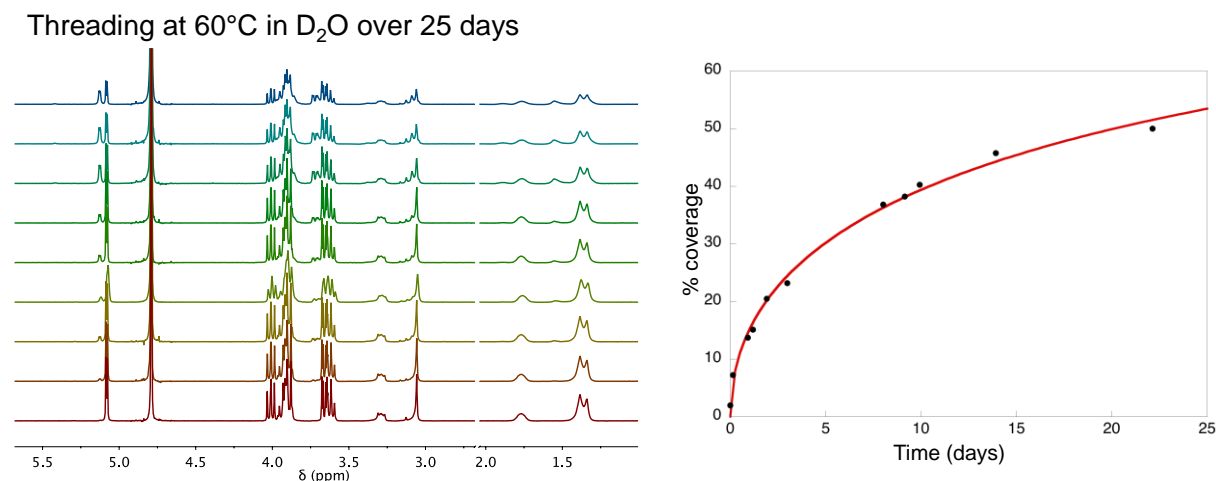


Figure 3.6 : Suivi cinétique de l'enfilage de la CD native sur l'axe polyammonium perméthylé à 60°C dans D₂O

Même si les méthyles ammonium sont des pseudo-bouchons, le polyrotaxane est stable en solution à température ambiante sur de longues périodes (plusieurs mois). Afin de purifier le PR, nous avons choisi d'utiliser la filtration à travers une membrane qui permet une purification beaucoup plus rapide que la dialyse. La technique consiste à mettre le brut réactionnel dans une cartouche qui possède une membrane laissant passer les petites molécules ($MM < 10\,000$, dans notre cas la CD libre) et retenant le polyrotaxane. Après plusieurs cycles de centrifugation et lavages, le polyrotaxane est récupéré. L'un des avantages de la méthode est la possibilité de récupérer les CDs non enfilés ce qui dans le cas des CD fonctionnalisées sera très utile. Les spectres RMN ^1H du polypseudorotaxane avant et après purification sont présentés sur la Figure 3.7 a). Ces spectres montrent effectivement la disparition de la CD libre après la purification. L'enfilage de la CD est en outre confirmé par une TROESY où une corrélation entre les protons H-5 et H-3 de la CD et ceux de l'axe est observée (Figure 3.7 b)).

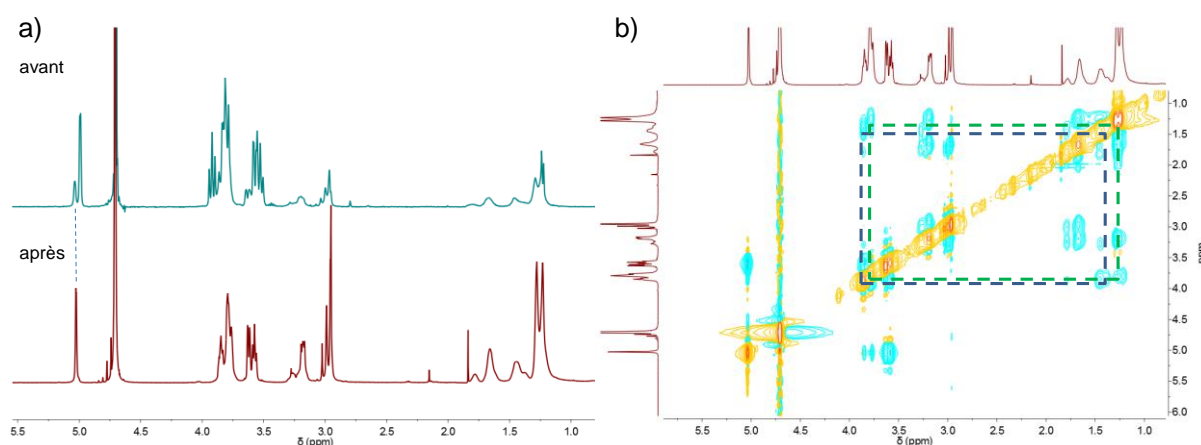


Figure 3.7 : a) Superposition des RMN ¹H (600 MHz, D₂O) avant et après purification du PR-CD et b) TROESY du PR-CD

Les conditions d'enfilage sont finalement optimisées avec un chauffage à 80°C pendant 4 à 5 jours permettant l'obtention d'un taux de recouvrement de 50% (taux calculé par intégration RMN ¹H) et un rendement de 46%.

b. Polyrotaxanes fonctionnalisés

Pré-fonctionnalisation

Le suivi cinétique de l'enfilage de la CDLa a été réalisé dans un premier temps à 60°C (tout comme pour la CD native dans D₂O) sur une vingtaine de jours. L'empilement des spectres RMN ¹H est présenté sur la Figure 3.8. La différenciation des signaux entre les CDLa qui sont enfilées est moins évidente que pour la CD native. En revanche pour le polyammonium les méthyles (à 3,1 ppm) se complexifient. L'équilibre est atteint au bout d'une vingtaine de jours mais le taux de recouvrement du polymère est de 25%

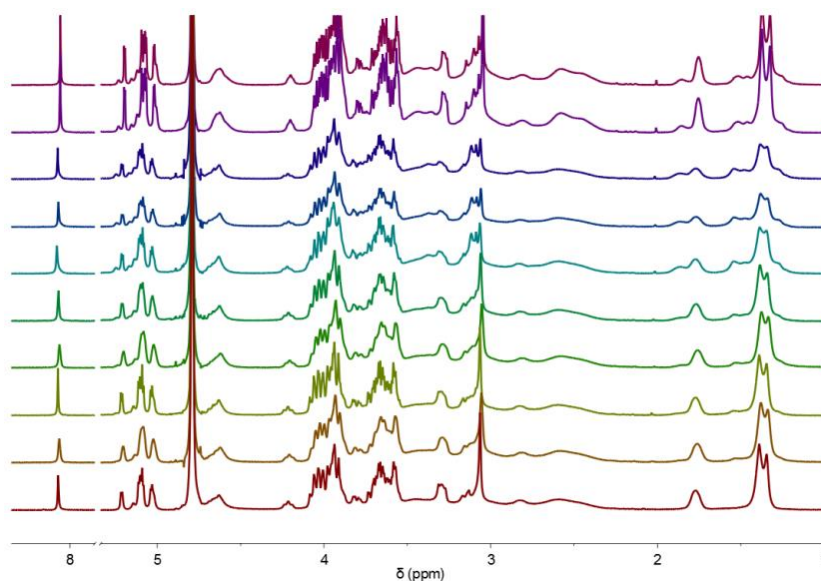


Figure 3.8 : Suivi cinétique de l'enfilage de la CDLa sur l'axe polyammonium perméthylé à 60°C dans D₂O (400 MHz, D₂O)

Par la suite, la synthèse de différents polyrotaxanes fonctionnalisés a été envisagée. Dans un premier temps la synthèse des polyrotaxanes portant un seul type de CD fonctionnalisée a été réalisée. Pour les CDLn, CDLn₂ et la CD-Ant-Ln, l'enfilage est réalisé à 80°C pendant 4 jours. Ces cyclodextrines fonctionnalisées sont stables à cette température. En revanche, les essais réalisés avec la CD-Bod1 semblent conduire à la dégradation de cette dernière car les bruts réactionnels sont noirs et ne fluorescent plus sous excitation UV. Sur la Figure 3.9, les différents polyrotaxanes portant un seul type de CD fonctionnalisée sont présentés. Tous ces polyrotaxanes ont été purifiés par filtration à travers une membrane.

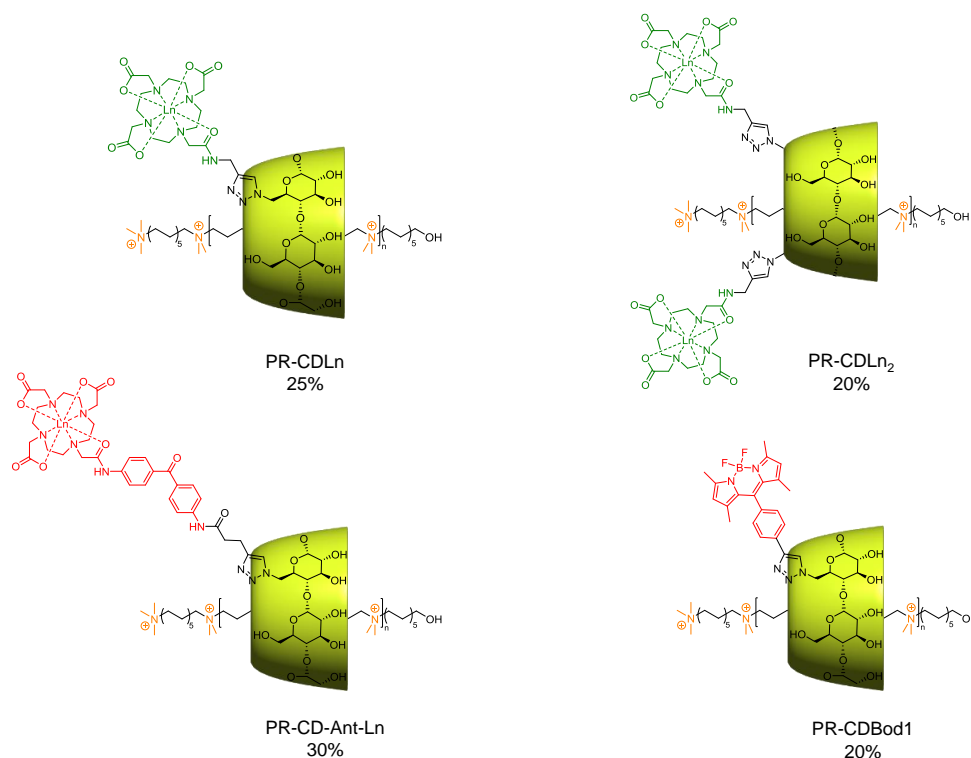


Figure 3.9 : Polyrotaxanes avec un seul type de CDs enfilées ainsi que les rendements

Sur la Figure 3.10 sont présentés un exemple de spectre RMN ^1H avant et après purification pour le PR-CDLa. Les spectres sont plus complexes qu'avec la CD native. Néanmoins dans la région de 5 ppm la disparition de certains signaux est clairement visible après la purification, ce qui correspond à la disparition de la CDLa libre. De plus les signaux de la CDLa libre sont plus résolus que la CDLa enfilée. Les CDs enfilées ont une mobilité réduite en solution ce qui se traduit par un élargissement des déplacements chimiques en RMN. Les enfilages sont confirmés par TROESY avec l'existence des pics de corrélation entre la CDLa et l'axe (comme pour la CD native).

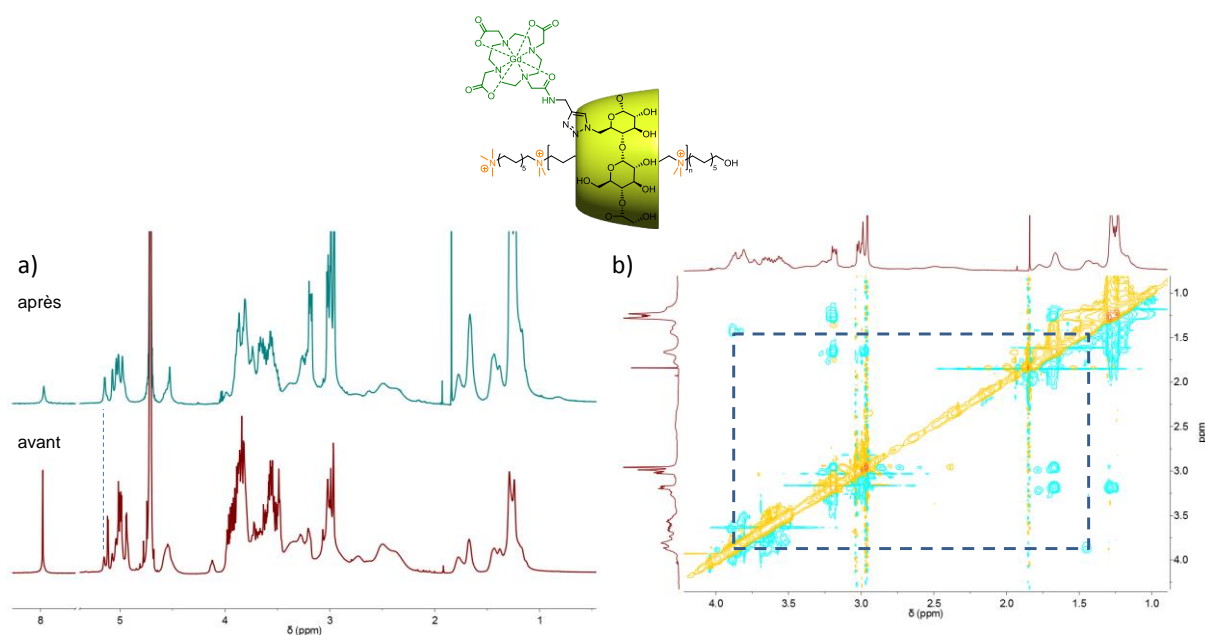


Figure 3.10 : a) RMN ^1H (600 MHz, D_2O) avant et après purification du PR-CDLa et b) TROESY du PR-CDLa

Pour la CD-Bod1, l'enfilage a été réalisé à 45°C pendant 4 jours. La température a été diminuée pour minimiser la dégradation de la sonde fluorescente. Pour le PR-CD-Bod1, dans D_2O , les signaux des aromatiques ne sont pas visibles et les signaux de la CD sont larges. En rajoutant du méthanol les signaux des aromatiques s'affinent et apparaissent clairement. Les spectres RMN sont présentés sur la Figure 3.11. La partie BODIPY reste apolaire et donc très peu solvatée par les molécules d'eau ce qui explique la coalescence des signaux sur le spectre RMN dans D_2O .

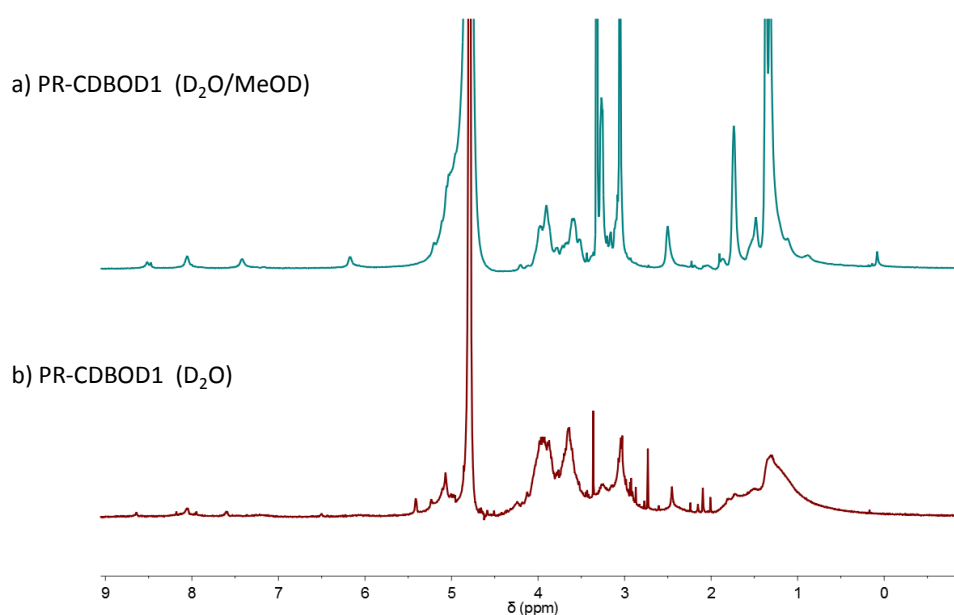


Figure 3.11 : Spectre RMN ^1H (600 MHz) de PR-CD-Bod1 dans a) $\text{D}_2\text{O}/\text{MeOD}$ et b) D_2O

Des tests pour l'enfilage des CD-Bod2, CD-Bod-PEG ont été réalisés, mais les produits isolés après purification ne présentent aucun signal visible en RMN ^1H pour les signaux aromatiques des parties BODIPYs même en présence de méthanol. Néanmoins les produits isolés après filtration sur membrane sont colorés. Par la suite en complément des différentes études qui ont été menées il serait intéressant de faire de la CES (Chromatographie d'exclusion stérique) pour la caractérisation de ces polyrotaxanes. Les colonnes pour les polycations ne sont pas très courantes. Nous attendons à ce jour les résultats des échantillons envoyés au laboratoire PPMD de l'ESPCI. Ceci viendrait en preuve supplémentaires pour démontrer que les sondes, comme les dérivés de BODIPY, sont bien enfilées. L'utilisation d'autres méthodes pour la caractérisation de systèmes polymériques comme la DLS peut aussi être envisagée.

La CD-La-Bod1 a été également testé, mais le produit isolé ne semble pas contenir de CD enfilée. Le produit isolé correspond au polymère seul. Les études d'enfilage de la CD-La-Bod1 sur le monomère (diaminododécane perméthylé) dans le Chapitre 2 ont montré que la CD s'enfilait très peu. La faible affinité pour l'axe monomérique se traduit également sur le polymère.

Deux polyrotaxanes bimodaux ont été synthétisés en utilisant la CDLn comme agent de contraste pour l'IRM et la CD-Bod1 d'une part et la CD-Ant-La d'autre part (Figure 3.12).

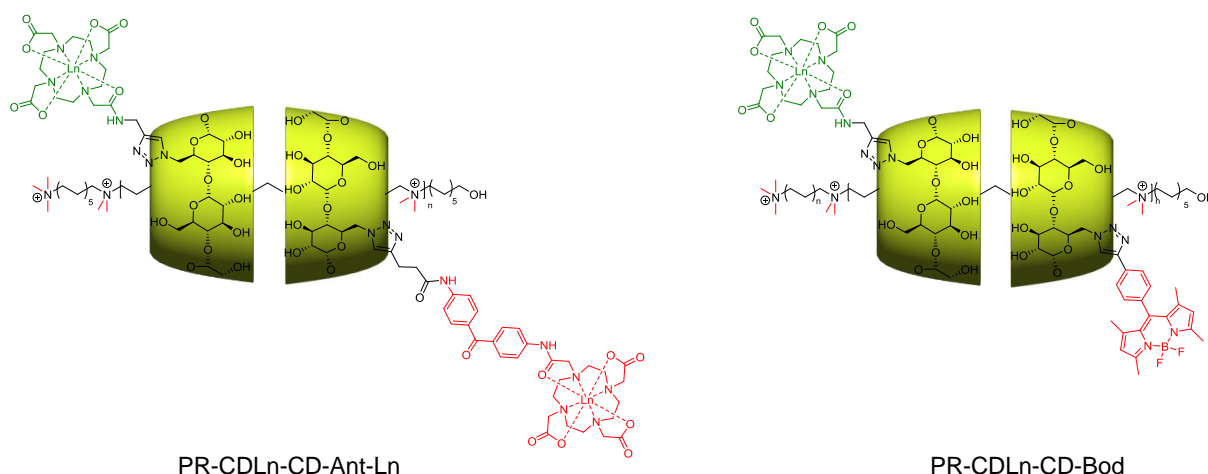


Figure 3.12 : Polyrotaxanes bimodaux

Pour celui correspondant au mélange CDLn et CD-Ant-Ln, différentes proportions de chaque CD ont été utilisées. Les deux CDs sont mélangées initialement dans l'eau et

l'enfilage est réalisée à 80°C. La CD-Ant-Ln s'enfile légèrement mieux que la CD-Ln avec un taux d'enfilage de 35% pour la CD-Ant-Ln contre 25% pour la CDLn. L'obtention de polyrotaxane bimodal est possible en mélangeant la CDLn et la CD-Ant-Ln. Les proportions relatives de chaque CD sont présentées dans le Tableau 3.. Le pourcentage relatif où les CDs sont, au départ, introduites de façon équimolaire au début se retrouve dans le PR. La proportion initiale est retrouvée dans le cas du mélange 1:1 mais un léger enrichissement en CDAnt La est observé pour le mélange 8:2.

Tableau 3.2 : Taux d'enfilage et proportions dans les PRs des CDLn et CD-Ant-La

Proportions CDLn/CD-Ant-Ln	Taux de recouvrement	CDLn	CD-Ant-Ln
0/1	35	--	100
1/0	25	100	--
0,5/0,5	20	50	50
0,8/0.2	30	60	40

Pour le mélange CD-Bod1 et CDLn, la CDLn est introduite dans un premier temps puis l'enfilage de celle-ci est réalisé à 80°C ; la CD-Bod1 est rajoutée dans un second temps et le mélange est chauffé à 45°C. De même que pour le PR-CDBod1, les aromatiques ne sont pas visibles dans D₂O. Néanmoins le signal du triazole de la CDLa est visible dans D₂O. Les signaux correspondant à la BODIPY apparaissent dans un mélange eau/méthanol (Figure 3.13).

A ce stade nous avons montrés que la synthèse des PRs possédant un seul type de CD fonctionnalisé est possible, mais également la synthèse de PRs bimodaux.

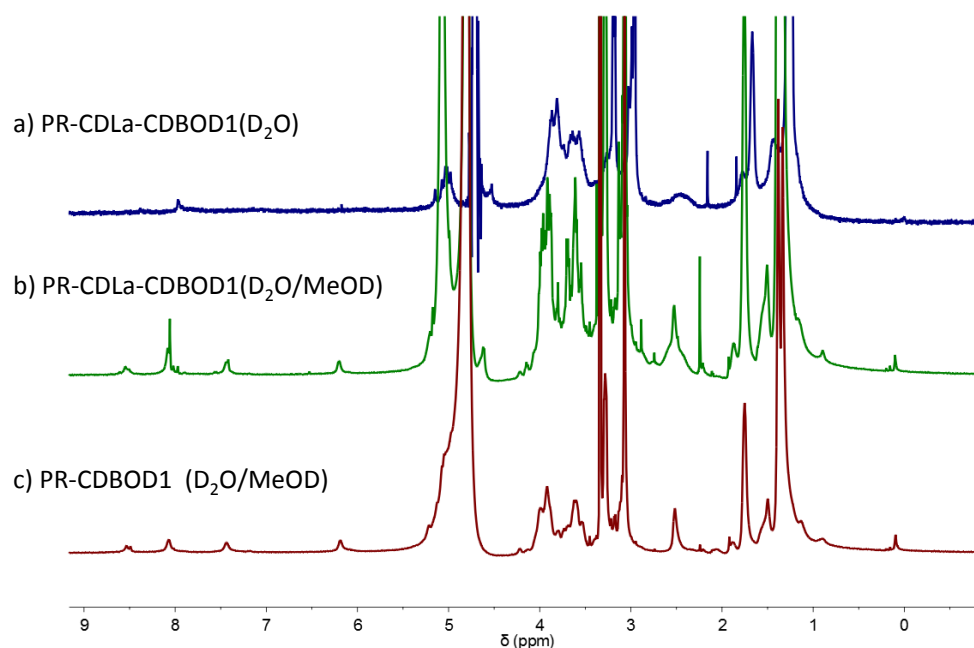


Figure 3.13 : Spectre RMN ^1H (600 MHz) des PR contenant CD-Bod1

Le Tableau 3.3 résume les taux de recouvrement du polymère par les différentes CDs fonctionnalisées. Les CDs fonctionnalisées s'enfilent moins bien que la CD native. Ceci est en accord avec ce qui a été observé pour le monomère dans le Chapitre 2. Ce tableau présente les premiers tests d'enfilage qui sont encourageant puisque le comportement des CDs fonctionnalisées correspond à nos attentes à savoir un enfilage sur le polyammonium dans les conditions qui ont été optimisées.

Tableau 3.3 : Taux d'enfilage des différents PRs.

	CD	CDLn	CDLn ₂	CD-Bod1	CD-Ant-Ln
PR-CD	50%	-	-	-	-
PR-CDLn	-	25%	-	-	-
PR-CDLn₂	-	-	20%	-	-
PR-CD-Bod1	-	-	-	25%	-
PR-CD-Ant-Ln	-	-	-	-	35%
PR-CDLn-CD-Ant-Ln	-	18%	-	-	12%
PR-CDLn-CD-Bod-1	-	12%	-	13%	-

Post-fonctionnalisation des PRs

Les sondes fluorescentes organiques comme la BODIPY et la cyanine sont fragiles dans les conditions qui ont été mis en place notamment la température assez importante d'enfilage. Ainsi nous avons envisagé la synthèse de polyrotaxane par post-fonctionnalisation. Ces travaux ont été réalisés lors du stage de Jérémy Scelle.

Pour cela l'enfilage de la CDN_3 et de la $CD(N_3)_2$ est réalisé. Le taux de recouvrement du polyammonium par CDN_3 et $CD(N_3)_2$ sont assez élevés et supérieurs à celui de la CD native ce qui est assez inattendu (Tableau 3.4). Pour un mélange équimolaire de CDN_3 et de CDLa ceci se traduit par une plus grande proportion de CDN_3 enfilée que pour la CDLa.

Tableau 3.4 : Taux de recouvrement des PR pour la post-fonctionnalisation

	CDN_3	$CD(N_3)_2$	CDLa
PR-CDN_3	74%	--	--
PR-$CD(N_3)_2$	--	73%	--
PR-CDN_3/CDLa	44%	--	16%

Ensuite, la conjugaison du complexe de lanthane **15** est envisagée sur le PR- CDN_3 (Schéma 3.5) car la réaction entre le complexe de La et la CDN_3 donne de bons rendements. De plus la solubilité du complexe de La dans l'eau permet un suivi RMN de la réaction directement dans D_2O .

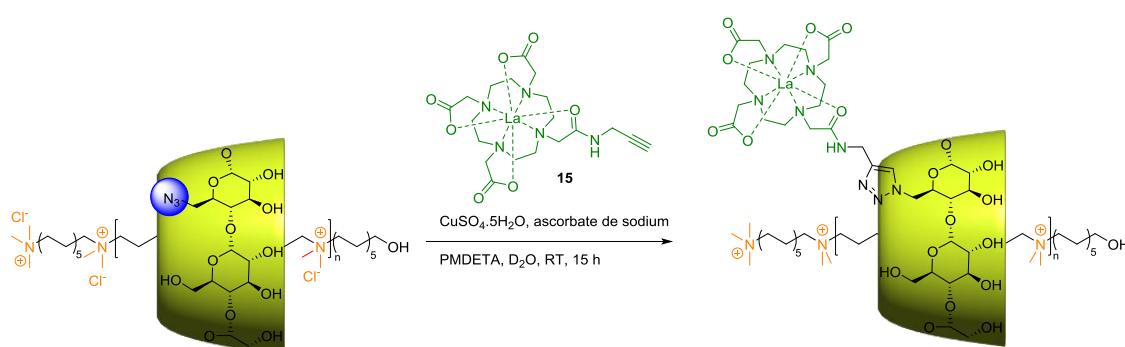


Schéma 3.5 : Synthèse du PR-CDLa par post-fonctionnalisation

La RMN 1H montre la disparition des pics caractéristiques de la CDN_3 et l'apparition de ceux du PR de CDLa (Figure 3.14). Le pic caractéristique du triazole vers 8 ppm n'est malheureusement pas visible car il y a un échange avec le deutérium de D_2O pendant la réaction. Le spectre infra-rouge montre la disparition de la vibration caractéristique de

l'azoture à 2100 cm^{-1} et confirme le caractère quasi-quantitatif de la réaction de post-fonctionnalisation.

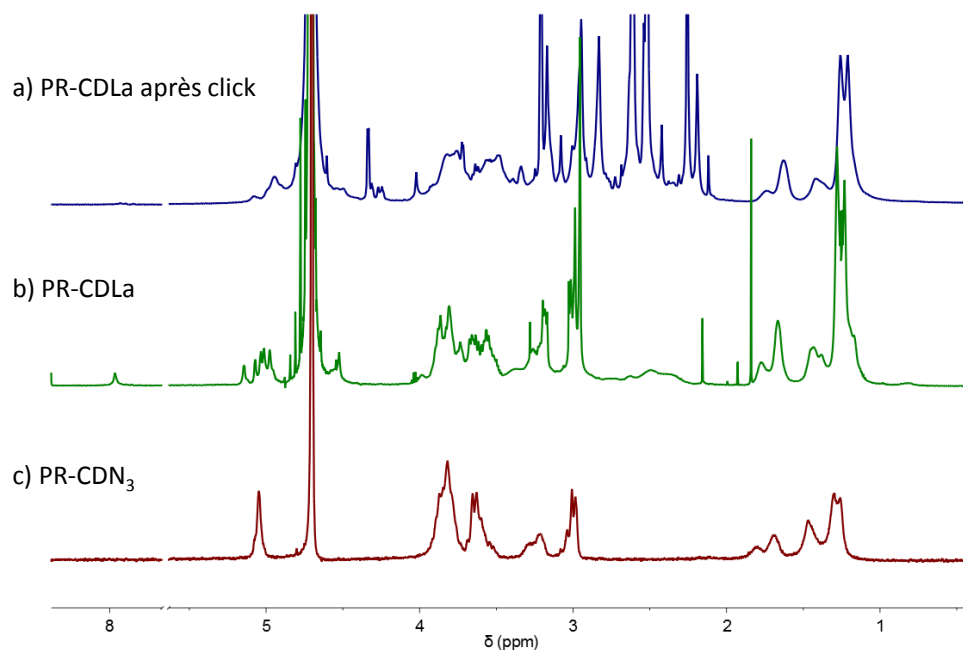


Figure 3.14 : RMN ^1H (600 MHz, D_2O) du a) PR-CDLa après click b) PR-CDLa et c) PR-CDN $_3$

La réaction a aussi été réalisée avec le Bodipy1 avec un polyrotaxane di-fonctionnel (le PR-CDN $_3$ -CDLa) (Schéma 3.6). Ce polyrotaxane a été mis en réaction dans les conditions de CuAAC en présence de Bodipy1 dans un mélange eau / DMSO pour assurer la solubilité de la Bodipy1. Le spectre infra-rouge du polyrotaxane bifonctionnalisé montre la disparition de la bande caractéristique de l'azoture. Néanmoins, comme précédemment, les pics des protons aromatiques de la BODIPY ne sont pas visibles dans le spectre RMN dans D_2O .

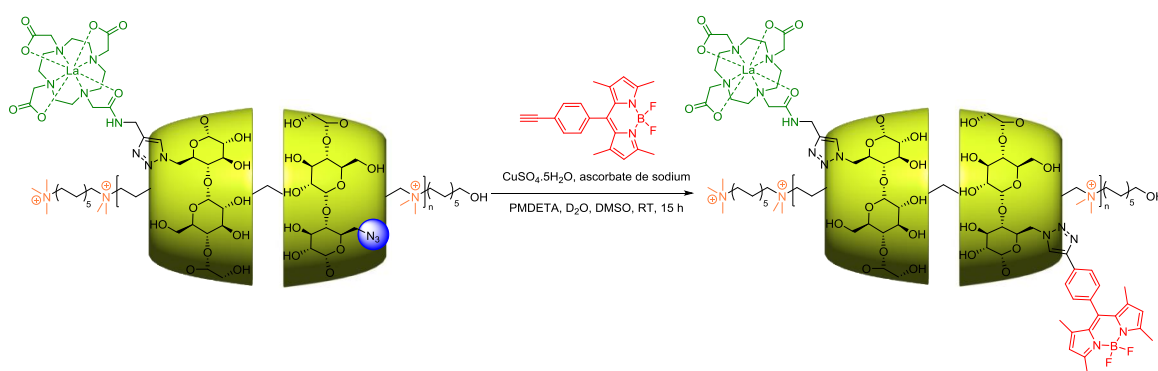


Schéma 3.6 : Synthèse du PR-CDLa-CDBod1 par post-fonctionnalisation

En conclusion, la post-fonctionnalisation d'une seule CD permet de garder la modularité de notre approche et l'introduction de groupements fonctionnels sensibles dans des conditions

douces. En effet, un PR-CDLa-CDN₃ a été synthétisé et la post-fonctionnalisation par une sonde fluorescente est possible.

De plus, la post-fonctionnalisation est potentiellement intéressante pour l'introduction d'une plus grande quantité de groupements fonctionnels sur le polyrotaxane puisque les CDN₃ s'enfilent mieux que les CDs fonctionnalisés par les complexes d'IRM. Il serait peut-être intéressant de regarder l'influence de la concentration en agent de contraste sur le polyrotaxane. En effet le PR avec une plus grande quantité de CDGd enfilée augmenterait la rigidité du système et pourrait éventuellement augmenter la relaxivité.

4. Propriétés

a. Fluorescence

Les spectres d'absorption et d'émission des polyrotaxanes (Figure 3.15) comportant des sondes fluorescentes (Bodipy et Antenne) ne sont pas modifiés. En effet, les longueurs d'onde d'absorption maximale et d'émission ne changent quasiment pas par rapport aux CD libres.

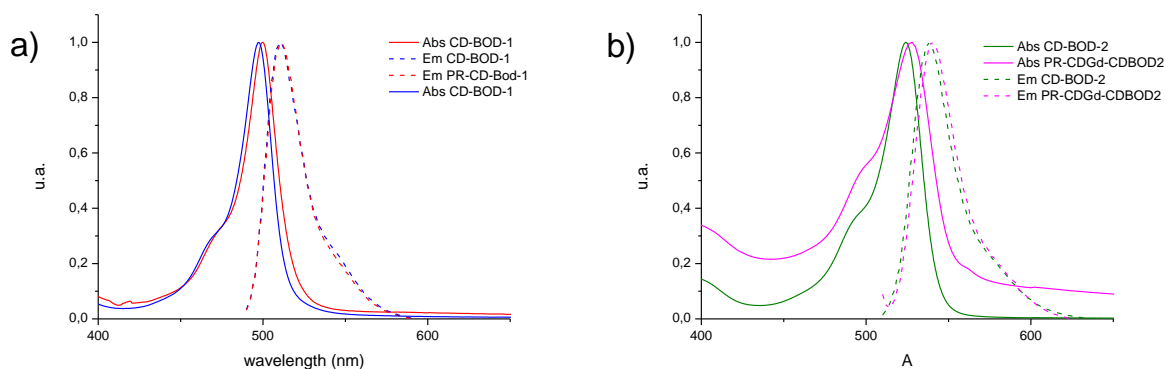


Figure 3.15 : Spectre a) d'absorption et b) d'émission des PR-CDGd-Bod et CDBod

Le Tableau 3.5 résume les propriétés des CD-Bod et des PRs contenant les BODIPYs. Ces données confirment la conservation des propriétés photophysique de ces sondes fluorescentes lorsqu'elles enfilées sur le polyammonium.

Tableau 3.5 : Propriétés d'absorption et d'émission des CD-Bod et des PRs

Composé	Solvant	$\lambda_{\text{max abs.}}$ (nm)	$\lambda_{\text{max em.}}$ (nm)	$\Delta\lambda$ (nm)
CD-Bod1	H ₂ O/CH ₃ CN (8/2)	499	511	12
PR-CDLa-CD-Bod1	H ₂ O/CH ₃ OH (9/1)	501	511	10
CD-Bod2	H ₂ O/CH ₃ OH (1/1)	524	538	14
PR-CDLa-CDBod2	H ₂ O/CH ₃ OH (9/1)	526	538	12

La synthèse de PRs comportant des sondes fluorescentes est possible puisque les propriétés sont conservées. L'enfilage de plusieurs sondes fluorescentes pourra être envisagé en fonction de l'émission que l'on désire.

b. Mesures de relaxivités

Comme pour les CD fonctionnalisées par les agents de contraste et les [3]rotaxanes les profils NMRD des différents polyrotaxanes ont été mesurés (Figure 3.16).

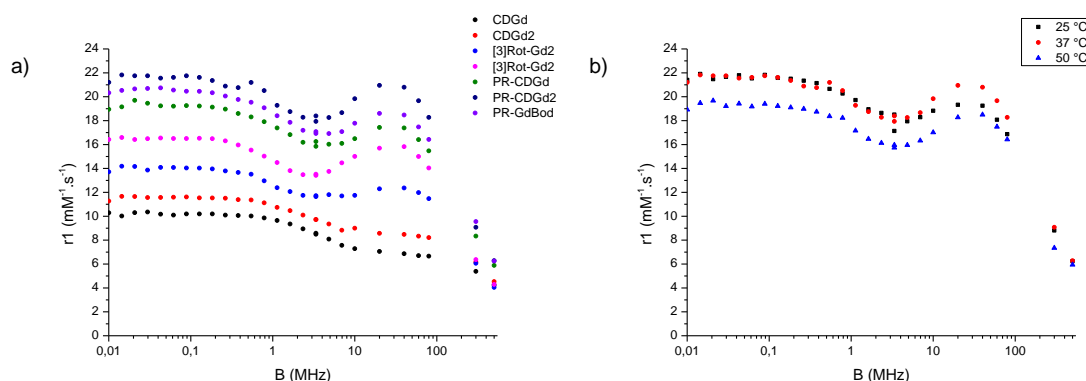


Figure 3.16 : Profil NMRD de a) différents composés Gd à 37°C et
b) du PR-CDGd₂ à 25, 37 et 50°C.

Les polyrotaxanes qui comportent soit la CDGd ou CDGd₂ possèdent une relaxivité plus importante que le composé libre respectif. De plus dans la gamme 10 à 100 MHz, l'effet dû à l'architecture macromoléculaire est présent. Une augmentation de la relaxivité est observée dans cette région pour les deux polyrotaxanes.

Tableau 3.6 présente les relaxivités à 25°C et 37°C et à 60 MHz des différents composés qui ont été synthétisés. L'augmentation de relaxivité selon les composés suit ce qui est attendu.

Tableau 3.6 : Relaxivité ($\text{mM}^{-1}.\text{s}^{-1}$) des différents composés à 25°C et 37°C à 60 MHz

	r_1 à 25°C	r_1 à 37°C
DOTA-Gd commercial	4,0	3,0
CDGd	7,6	6,7
CDGd ₂	9,0	8,3
[3]Rot-Gd ₂	11,5	12,0
[3]Rot-Gd ₄	13,6	15,0
PR-CDGd	15,4	16,4
PR-CDGd ₂	18,1	19,7
PR-CDGd-CD-Bod1	16,8	17,5

En outre, ces polyrotaxanes ont une relaxivité plus grande que les [3]rotaxanes modèles. L'effet du polymère est donc bien présent. Le [3]rotaxane ne suffit pas à lui seul à apporter le gain de relaxivité qui est obtenue avec le polyrotaxane. Le polyrotaxane bimodal PR-CDGd-CD-Bod-1 a une relaxivité qui est plus importante que le PR-CDGd. La CD-Bod1 doit apporter une certaine rigidité au système d'où l'observation de ce gain de relaxivité par rapport au PR-CDGd. La superposition des profils NMRD sur la Figure 3.16 a) montre bien le gain de relaxivité entre les différents composés.

Tout comme pour les [3]rotaxanes l'augmentation de la température de 25°C à 37°C entraîne une augmentation de la relaxivité (Figure 3.15 b)). Deux paramètres pouvant influencer sur la relaxivité nous intéressent dans ce cas-là : la vitesse d'échange des molécules d'eau libres et liées au Gd, et la rotation des complexes de Gd. A 37°C la vitesse d'échange est augmentée ce qui entraîne une augmentation de la relaxivité. L'effet est visible sur la gamme de 10 à 100 MHz. Cette augmentation est suffisante pour compenser l'augmentation de la vitesse de rotation des molécules. En revanche en passant à 50°C la vitesse de rotation augmente trop par rapport à la vitesse d'échange entre les molécules d'eau. Ceci se traduit par une diminution de la relaxivité quand la température passe à 50°C.

L'utilisation du PR entraîne une augmentation de la relaxivité par rapport au complexe DOTA-Gd commercial.

III. Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré dans un premier temps que l'encombrement stérique empêche l'enfilage direct des CDs fonctionnalisées sur un axe PEG. Les fonctions qui sont sur les cyclodextrines ne permettent pas la formation de liaisons hydrogène entre les CDs qui sont a priori la principale force motrice de la formation de polypseudorotaxanes de PEG.

En revanche, la synthèse de polyrotaxanes fonctionnalisés avec un axe polyammonium est possible. Ainsi, plusieurs cyclodextrines fonctionnalisées ont été enfilées. Deux voies de synthèses ont été mises au point pour accéder à ces polyrotaxanes bimodaux. Une approche où plusieurs CDs sont déjà fonctionnalisées sont introduites et s'auto-enfilent pour obtenir un polyrotaxane bimodal. Cette voie nécessite un chauffage long à une température élevée ce qui peut poser problème pour les groupements fonctionnels fragiles. Ce problème se pose surtout pour les sondes fluorescentes telles que les Bodipys et les cyanines qui peuvent se dégrader à haute température. Une approche par post-fonctionnalisation est une solution alternative. En effet, nous avons montré qu'une sonde bimodale peut être obtenue tout en gardant la modularité de l'approche polyrotaxane. En partant du PR-CDN₃-CDLa nous avons ainsi introduit, dans des conditions douces, une sonde fluorescente par post-fonctionnalisation. Cette approche permet de ne pas dégrader la sonde et d'obtenir ainsi un polyrotaxane bimodal avec de bons rendements et puretés.

Les études sur le polyrotaxane bimodal portant la CDBod1 et la CDGd montrent que les propriétés de fluorescence sont conservées et la relaxivité est augmentée. La synthèse d'un agent bimodal est donc possible en utilisant un polyrotaxane à base de polyammonium et de cyclodextrines fonctionnalisées.

Conclusion générale

Nous avons vu dans l'introduction que plusieurs stratégies existent pour la préparation d'un agent bimodal (liposomes et les QDs par exemple). Ce travail de thèse a consisté à explorer une nouvelle approche et à réaliser des polyrotaxanes à base de CD pour l'imagerie bimodale. Nous avons choisi d'utiliser une stratégie « lego » afin de pouvoir moduler facilement les propriétés de l'agent d'imagerie. Pour ce faire, différentes cyclodextrines fonctionnalisées par des sondes fluorescentes (BODIPY, cyanine, complexe d'euporium) et un agent de contraste à base de gadolinium pour l'IRM ont été synthétisées.

Dans une première partie la mono-fonctionnalisation et la di-fonctionnalisation sélectives des cyclodextrines ont été réalisées avec le complexe pour l'IRM. Les propriétés de relaxivité de l'agent de contraste ainsi greffé sur la CD sont améliorées par rapport au complexe seul. Ces améliorations étaient de bon augure pour la suite du projet. Ensuite la mono-fonctionnalisation par des sondes fluorescentes a été effectuée. Ainsi plusieurs sondes fluorescentes ayant des émissions complémentaires dans le visible et proche infrarouge (BODIPY, cyanine, complexe d'euporium) ont été greffées sur la CD. Les propriétés de fluorescence de ces sondes sont conservées. Nous avons montré en outre que l'utilisation de la CuAAC pour l'introduction de ces fonctions sur la cyclodextrine est une méthode efficace et robuste.

Dans une deuxième partie, l'affinité des CD fonctionnalisées pour différents axes modèles a été étudiée. La formation de complexes d'inclusion avec le diaminododécane a été observée. Ces complexes se forment facilement et sont assez stables thermodynamiquement. En revanche, les complexes d'inclusion avec un modèle de PEG se forment très peu en solution. Ainsi, les chaînes alcanes ont été privilégiées aux chaînes éthylène glycols pour l'enfilage des cyclodextrines fonctionnalisées.

En complément de cette étude, des [3]rotaxanes de cyclodextrines fonctionnalisées par les agents de contraste pour l'IRM ont été synthétisés avec des rendements corrects. Les propriétés de relaxivité sont nettement augmentées par l'incorporation des CD dans une architecture supramoléculaire démontrant l'intérêt de cette approche supramoléculaire pour l'élaboration d'agents de contraste. Des études préliminaires avec les oligomères de polyammonium ont également été réalisées. La synthèse d'oligorotaxanes devrait permettre l'obtention d'un meilleur contrôle de la pureté des agents bimodaux. Néanmoins, les conditions réactionnelles pour le bouchonnage doivent encore être mises au point.

Finalement, l'enfilage des CDs fonctionnalisées sur un polymère a été étudié. La principale difficulté a été que les fonctionnalités des CDs empêchent l'établissement d'un réseau de liaisons hydrogènes qui constitue la principale force motrice pour la formation du polyrotaxane quand un PEG est utilisé en tant qu'axe. Cette difficulté a pu être surmontée même si l'utilisation d'un axe PEG n'a pas été concluante. Différents polyrotaxanes ont été synthétisés avec un axe polyammonium. Ainsi, des PR bimodaux ont été obtenus par enfilage direct de deux cyclodextrines différentes (CDGd d'une part et CD-Bod1 ou CD-Ant-Eu d'autre part).

Pour les sondes sensibles une stratégie de post-fonctionnalisation à partir d'un PR de CDN_3 et CDLa a été mise en place. Ainsi, tout en gardant la modularité de l'approche polyrotaxane cette méthode permet la synthèse sous des conditions très douces. La mise en place de ces deux stratégies complémentaires (enfilage direct et post-fonctionnalisation) nous permet d'envisager l'introduction d'une grande variété de groupements fonctionnels et la préparation de polyrotaxanes multimodaux ou théranostiques.

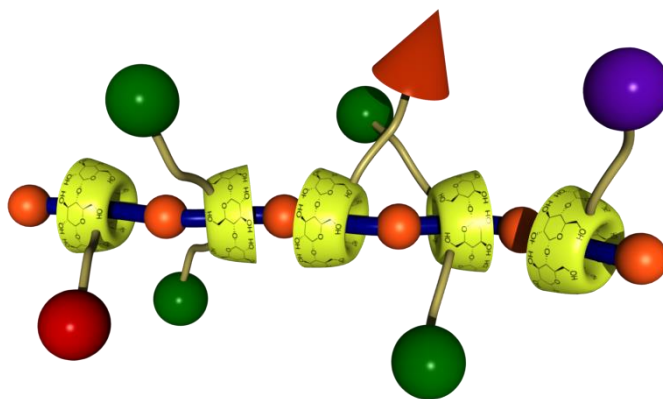
Les propriétés de fluorescences sont conservées lorsque les sondes sont enfilées sur les polyrotaxanes permettant d'envisager leur utilisation dans des études biologiques. De plus les propriétés d'agent de contraste pour l'IRM sont nettement améliorées (notamment l'augmentation de la relaxivité). Ainsi, par rapport au complexe DOTA-Gd la relaxivité est multipliée par 4 voire 5 pour certains de nos systèmes.

Enfin ces différents agents pour l'imagerie devront être testés *in vitro* et *in vivo* ce qui permettrait de voir le gain au niveau d'une image en comparaison avec ce qui est décrit dans la littérature.

Les objectifs de cette thèse ont été largement remplis avec la synthèse et caractérisation de ces premiers exemples de polyrotaxanes bimodaux. Ceci démontre la viabilité de notre

concept de polyrotaxanes pour l'imagerie. Dans la suite de ce projet, on peut envisager l'amélioration des propriétés de relaxivité par la modification du complexe de Gd (où la vitesse d'échange des molécules d'eau serait plus rapide par exemple) ou de l'axe pour augmenter la rigidité. L'introduction de sondes fluorescentes hydrosolubles et plus stables pour une meilleure compatibilité avec les conditions d'enfilage pourrait aussi être réalisée. De plus, la synthèse d'oligorotaxanes de CD pourrait permettre d'étudier l'influence de la taille sur les propriétés de relaxivité.

Nous pouvons aussi envisager l'introduction d'une troisième (cf figure ci-dessous) voire d'une quatrième CD. Ce système pourrait permettre de faire de l'imagerie multimodale par l'introduction d'un agent de contraste pour une autre technique d'imagerie comme la SPECT. La fonctionnalisation d'une CD par un agent de ciblage donnera un agent pour l'imagerie spécifique à certains types de tissus et donc d'étudier des processus biologiques. Et enfin ces polyrotaxanes multifonctionnels pourraient être utilisés à des fins thérapeutiques. Par exemple le PR qui porterait, en plus des agents d'imagerie, un principe actif, permettra de faire des études de processus (ainsi que l'évolution) intervenant dans le traitement d'une maladie comme le cancer en plus du traitement.



Experimental Part

General Synthetic Methods. ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra were recorded at 300, 400 or 600 MHz on Brüker spectrometers. Chemical shifts (δ) are reported in ppm from tetramethylsilane. Mass spectrometry was performed by ESI on a Brüker microTOF spectrometer. Microwave assisted reactions were done in a Milestone Start S oven, equipped with a temperature control unit. Reagent grade tetrahydrofuran was distilled from sodium and benzophenone. Dichloromethane and acetonitrile were distilled from CaH_2 under argon atmosphere. Tetrahydrofuran and triethylamine were degassed with a stream of argon for 30 min before being used in the Sonogashira coupling reactions. All others chemicals were purchased from commercial suppliers and used without further purification. Flash column chromatography was performed using silica gel from Merck. Thin layer chromatography was performed using aluminum plates pre-coated with silica gel 60 F254 0.20 mm layer thickness purchased from VWR. Absorption spectra were recorded on a JASCO V-670 spectrophotometer.

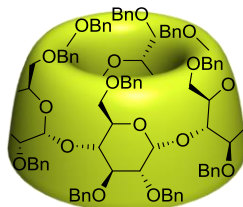
Relaxivity profiles. Proton NMRD (nuclear magnetic relaxation dispersion) profiles were recorded on a Stelar SMARtracer Fast Field Cycling NMR relaxometer (0.01-10 MHz) and a Bruker WP80 NMR electromagnet adapted to variable field measurements and controlled by a SMARtracer PC-NMR console. The temperature was monitored by a VTC91 temperature control unit and maintained by a gas flow. The temperature was determined by previous calibration with a Pt resistance temperature probe. The longitudinal relaxation rates ($1/T_1$) were determined in water. The least-square fit of the ^1H NMRD data were performed by using MicroMath Scientist version 2.0 (Salt Lake City, UT, USA).

DOSY studies. DOSY studies between CDs (CD and CDLa) and the axis were performed at 1:1 mixture at 2.8 mM in deuterium oxide at 300 K.

Kinetics studies. The threading process was monitored for 1:1 mixture of axis and each cyclodextrins in deuterated solvents by ^1H NMR (at 600 MHz or 400 MHz) at 300 K. The integration of suitable signal was plotted over time. The curve was fitted with an exponential model ($y = A(1 - \exp(-kt))$) giving the rate constant of the threading process.

Synthesis of CDN_3 and $\text{CD}(\text{N}_3)_2$

Perbenzylated α -cyclodextrin (**2**)

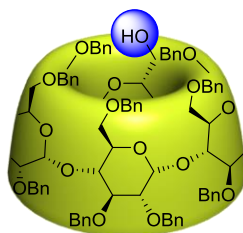


A 1 L round-bottom flask was charged with freeze-dried α -cyclodextrin **1** (7 g, 10 mmol, 1 eq) and dimethylsulfoxide (150 mL). NaH (13 g, 0.54 mol, 45 eq) was added portionwise and the mixture was stirred at room temperature for 3 hours. Benzylchloride (40 mL, 0.4 mol, 40 eq) was added dropwise during 1 hour. The mixture was stirred for 16 hours at room temperature. 100 g of ice were carefully added and the mixture was extracted by 3x250 mL of diethylether and 150 mL of distilled water. The combined organic layers were dried on MgSO_4 , concentrated under vacuo and purified by column chromatography, using 9:1 v/v cyclohexane/ethylacetate as eluent to provide **2** as a white powder (24.6 g, 95 %).

$^1\text{H NMR}$ (600 MHz, CDCl_3): δ 7.17-7.31 (m, 90H, aromatic-H), 5.13 (d, $J = 3.4$ Hz, 6H, 1-H), 5.24-4.92 (AB, $J_{AB} = 11$ Hz, 12H, CH_2Ph), 4.36-4.44 (AB, $J_{AB} = 12$ Hz, 12H, CH_2Ph), 4.19 (t, $J = 9.5$ Hz, 6H, 3-H), 4.09 (t, $J = 9.5$ Hz, 6H, 4-H), 4.04 (dd, $J = 11$ Hz, $J = 2.8$ Hz, 6H, 6-H), 3.92 (br d, $J = 9.5$ Hz, 5-H), 3.50-3.54 (m, 12H, 2-H and 6-H).

$^{13}\text{C NMR}$ (150 MHz, CDCl_3): δ 126.9-128.3 (CH-aromatic), 98.6 (C-1), 80.9 (C-3), 79.2 (C-4), 78.9 (C-2), 73.3 (3x OCH_2Ph), 75.6, 72.7, 71.5 (C-5), 69.0 (C-6).

Monol-benzylated α -cyclodextrin (**3**)



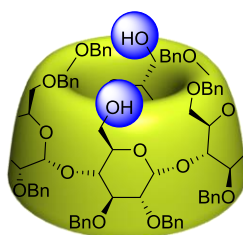
A 1 L round-bottom flask was charged with perbenzylated α -cyclodextrin **2** (16 g, 6.1 mmol, 1 eq), distilled toluene (30 mL) and diisobutylaluminium hydride (62 mL, 92 mmol, 15 eq).

The mixture was stirred at 50°C under nitrogen atmosphere for 30 min. The reaction was quenched by 200 g of ice. The aqueous layer was acidified to pH = 1 (HCl 1M) and the mixture was extracted by 3x200 mL of ethylacetate. The combined organic layers were dried on MgSO₄, concentrated under vacuo and purified by flash chromatography, using cyclohexane/ethylacetate as eluent to provide **3** as a white powder (10.2 g, 67 %).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): 7.07-7.27 (m, 90H), 5.44-5.55 (m, 2H), 5.30-5.42 (m, 2H), 5.14-5.26 (m, 2H), 4.76-4.99 (m, 12H), 4.63-4.73 (m, 2H), 4.26-4.60 (m, 20H), 4.15-4.26 (m, 2H), 4.05-4.16 (m, 6H), 3.82-4.05 (m, 16H), 3.62-3.77 (m, 4H), 3.52-3.61 (m, 3H), 3.37-3.52 (m, 6H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃): δ 139.54, 139.49, 139.46, 139.42, 139.37, 139.35, 138.70, 138.61, 138.52, 138.45, 138.37, 138.34, 138.27, 138.23, 138.22, 138.11, 138.07, 128.50, 128.46, 128.44, 128.41, 128.37, 128.31, 128.26, 128.21, 128.19, 128.15, 128.10, 128.04, 127.98, 127.95, 127.93, 127.88, 127.82, 127.80, 127.78, 127.75, 127.73, 127.70, 127.66, 127.64, 127.60, 127.51, 127.49, 127.41, 127.35, 127.21, 127.15, 127.11, 127.05, 126.99, 126.91, 126.86, 98.88, 98.49, 98.25, 98.18, 98.09, 81.53, 81.48, 81.32, 81.13, 80.96, 80.88, 80.49, 80.35, 80.08, 79.78, 79.56, 79.32, 79.12, 78.63, 78.20, 77.36, 76.68, 76.30, 76.18, 75.94, 74.76, 73.85, 73.52, 73.49, 73.44, 73.34, 73.24, 73.10, 73.01, 72.56, 71.98, 71.86, 71.62, 71.56, 71.45, 69.55, 69.44, 69.17, 61.68, 27.07.

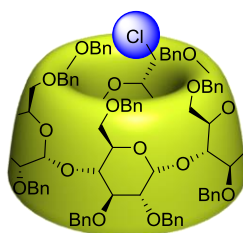
Diol-benzylated α-cyclodextrin (**4**)



A 1 L round-bottom flask was charged with perbenzylated α-cyclodextrin **2** (16 g, 6.1 mmol, 1 eq), distilled toluene (30 mL) and diisobutylaluminium hydride (62 mL, 92 mmol, 15 eq). The mixture was stirred at 50°C under nitrogen atmosphere for 30 min. The reaction was quenched by 200 g of ice. The aqueous layer was acidified to pH = 1 (HCl 1M) and the mixture was extracted by 3x200 mL of ethylacetate. The combined organic layers were dried on MgSO₄, concentrated under vacuo and purified by flash chromatography, using cyclohexane/ethylacetate as eluent to provide **4** as a white powder (6.9 g, 47 %).

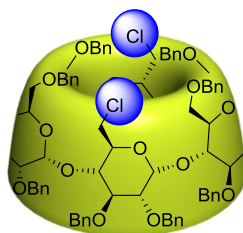
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7.31-7.11 (m, 80H, H arom.), 5.77 (d, J = 3.9 Hz, 2H), 5.49 (d, J = 10.4 Hz, 2H), 5.23 (d, J = 10.7 Hz, 2H), 4.94 (d, J = 10.4 Hz, 2H), 4.93 (d, J = 11.8 Hz, 2H), 4.83 (d, J = 11.8 Hz, 2H), 4.81 (d, J = 11.0 Hz, 4H), 4.76 (d, J = 3.3 Hz, 2H), 4.75 (d, J = 3.4 Hz, 2H), 4.60 (d, J = 12.1 Hz, 2H), 4.59 (d, J = 12.4 Hz, 2H), 4.58 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 4.54 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 4.51-4.53 (m, 6H), 4.41 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 4.36 (d, J = 12.6 Hz, 2H), 4.25 (m, 2H), 4.14 (m, 2H), 4.06 (dd, J = 9.6 Hz, J = 8.5 Hz, 2H), 4.04-3.73 (m, 22H), 3.67 (m, 2H), 3.61 (dd, 2H), 3.47-3.44 (m, 4H), 3.35 (m, 2H).

Mono-chloro benzylated α -cyclodextrin (**5**)



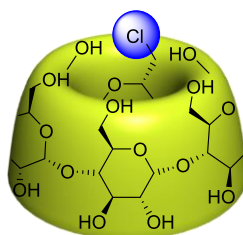
A 1 L round-bottom flask was charged with monol-benzylated α -cyclodextrin **3** (6 g, 2.4 mmol, 1 eq) and distilled dichloromethane (100 mL) under nitrogen atmosphere. Mesylchloride (0.46 mL, 5.9 mmol, 2.5 eq) and triethylamine (0.8 mL, 5.9 mmol, 2.5 eq) were added via a syringe. The yellow mixture was stirred at room temperature for 2 hours. Dichloromethane was removed under vacuo and anhydrous dimethylformamide (80 mL) was added to the residue. The mixture was stirred at 100 °C for 12 hours, then purified by flash chromatography, using cyclohexane/ethylacetate to provide **5** as a white powder (4.2 g, 70 %).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 7.03-7.37 (m, 90H), 4.95-5.35 (m, 12H), 4.80-4.94 (m, 6H), 4.27-4.57 (m, 20H), 3.82-4.23 (m, 23H), 3.72 (m, 2H), 3.65 (m, 1H), 3.3-3.6 (m, 10H).

Di-chloro benzylated α -cyclodextrin (6)

A 1 L round-bottom flask was charged with diol-benzylated α -cyclodextrin **4** (1 g, 0.44 mmol, 1 eq) and distilled dichloromethane (20 mL) under nitrogen atmosphere. Mesylchloride (0.13 mL, 1.66 mmol, 4 eq), imidazole (0.34 g, 4.97 mmol, 12 eq) and triethylamine (0.23 mL, 1.66 mmol, 4 eq) were added. The yellow mixture was stirred at room temperature for 2 hours. Dichloromethane was removed under vacuo and anhydrous dimethylformamide (5 mL) was added to the residue. The mixture was stirred at 100°C for 12 hours, and then purified by flash chromatography, using cyclohexane/ethylacetate to provide **6** as a white powder (740 mg, 74 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 – 6.70 (m, 80H), 5.17 (dd, J = 10.9, 2.6 Hz, 2H), 5.11 (d, J = 3.3 Hz, 2H), 5.06 (dd, J = 10.9, 2.6 Hz, 2H), 4.98 – 4.91 (m, 2H), 4.88 (d, J = 3.3 Hz, 3H), 4.75 (dd, J = 11.2, 8.7Hz, 6H), 4.60 – 4.45 (m, 2H), 4.43 – 4.22 (m, 18H), 4.12 – 3.72 (m, 24H), 3.64 (m, J = 21.0, 6.9 Hz, 6H), 3.51 – 3.40 (m, 4H), 3.37 (d, J = 9.8 Hz, 2H), 3.30 (d, J = 9.9 Hz, 2H).

Mono-chloro α -cyclodextrin (7)

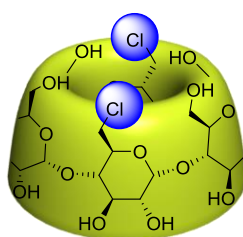
A 500 mL round-bottom flask was charged with mono-chloro benzylated α -cyclodextrin **5** (4.9 g, 1.94 mmol, 1 eq), $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (2.45 g, 0.5 eq/w), distilled water (45 mL), acetic acid (45 mL) and distilled tetrahydrofuran (200 mL). The mixture was stirred under dihydrogen

atmosphere at room temperature for 12 hours. After filtration on Celite plug, the residue was concentrated and freeze-dried to provide **7** as a white powder (1,8 g, 95 %).

¹H NMR (600 MHz, D₂O, ppm): δ 5.04 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 5.02 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 4.99 (t, *J* = 3.0 Hz, 4H), 4.13 – 3.71 (m, 24H), 3.65 – 3.44 (m, 12H).

¹³C NMR (151 MHz, D₂O): δ 101.40, 101.38, 101.36, 101.33, 101.30, 101.25, 82.07, 81.50, 81.39, 81.21, 81.20, 81.17, 73.30, 73.28, 73.24, 72.83, 72.27, 72.00, 71.98, 71.94, 71.89, 71.64, 71.62, 71.53, 71.17, 60.53, 60.40, 60.34, 44.52.

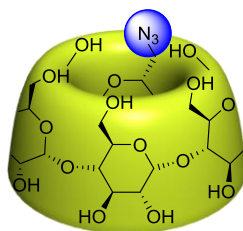
Di-chloro α-cyclodextrin (**8**)



A 100 mL round-bottom flask was charged with mono-chloro benzylated α-cyclodextrin **6** (1.2 g, 0.49 mmol, 1 eq), Pd(OH)₂/C (0.6 g, 0.5 eq/w), distilled water (10 mL), acetic acid (10 mL) and distilled tetrahydrofurane (34 mL). The mixture was stirred under dihydrogen atmosphere at room temperature for 12 hours. After filtration on Celite plug, the residue was concentrated and freeze-dried to provide **8** as a white powder (490 mg, 99%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.05 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H), 5.02 (d, *J* = 3.5 Hz, 2H), 5.01 – 4.97 (m, 2H), 4.08 – 3.86 (m, 4H), 3.84 – 3.72 (m, 20H), 3.67 – 3.41 (m, 12H).

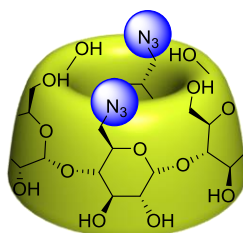
¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 101.37, 101.30, 82.14, 81.54, 81.44, 73.26, 73.23, 72.88, 72.31, 71.89, 71.61, 71.54, 71.20, 60.57, 44.49.

α -cyclodextrin monoazide (9)

Mono-chloro α -cyclodextrin **7** (300 mg, 0.3 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (20 mL) and sodium azide (195 mg, 3 mmol, 10 eq) were charged in a micro-wave oven and heated at 150°C for 1 hour. The mixture was filtered at room temperature to remove salts and the residue was purified by flash chromatography, using 7:3 v/v acetonitrile/water as eluent to provide **9** as a light brown powder after freeze-drying (239 mg, 80 %).

^1H NMR (600 MHz, D_2O): δ 5.13 – 5.04 (m, 6H), 4.06 – 3.80 (m, 24H), 3.74 – 3.51 (m, 12H).

^{13}C NMR (151 MHz, D_2O): δ 101.39, 101.36, 101.21, 82.14, 81.33, 81.20, 81.18, 73.27, 73.26, 73.24, 73.23, 72.97, 72.16, 72.00, 71.97, 71.94, 71.65, 71.63, 71.55, 71.53, 70.75, 60.50, 60.44, 60.39, 60.34, 51.24, 31.40.

 α -cyclodextrin diazide (10)

Sodium azide (195 mg, 3.0 mmol, 10 eq) was added to a stirred solution of dichloride α -cyclodextrin **8** (302 mg, 0.3 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (20 ml) under inert atmosphere. The mixture was stirred for 1 h under microwave at 150 °C. Then, the solvent was removed under reduced pressure. The product was purified by flash chromatography, using ACN/ H_2O 10-30%, to yield a brown solid **10** (240 mg, 79%).

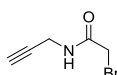
^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 5.01 (m, 6H), 4.00 – 3.69 (m, 24H), 3.64 – 3.47 (m, 12H).

^{13}C NMR (101 MHz, D_2O) δ 103.99, 103.81, 84.73, 83.90, 75.87, 75.65, 74.71, 74.51, 74.17, 74.10, 73.29, 63.00, 53.80.

HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{N}_6\text{O}_{28}\text{Na}$) 1045.3191; found 1045.3189.

Synthesis of contrast agent for MRI

2-bromo-N-(prop-2-ynyl)acetamide (**17**)^[120]

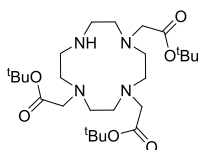


To a solution of bromoacetic acid (1 g, 7.1 mmol, 1 eq) in distilled dichloromethane (10 mL) cooled to 0°C with an ice-bath, propargylamine (460 μL , 7 mmol, 1 eq) was added via a syringe dropwise. A solution of dicyclohexylcarbonyldiimidazole (1.48 g, 7 mmol, 1 eq) in dichloromethane (5 mL) was added dropwise. The reaction was stirred at room temperature for 3 hours. The solvent was evaporated. The residue was purified by flash chromatography with cyclohexane/AcOEt to yield the amide **17** as a white solid (1.03 g, 81%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.08 (broad s, 1 H) 4.09 (dd, J = 5.3, 2.6 Hz, 2H), 3.90 (s, 2H), 2.28 (t, J = 2.6 Hz, 1H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 165.24, 78.65, 72.39, 30.11, 28.81

Compound (**12**)^[121]



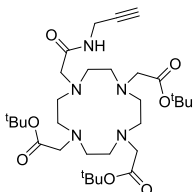
A round bottom flask was charged with cyclen **11** (1 g, 5.8 mmol, 1 eq) and N,N-dimethylacetamide (13 mL). Sodium acetate (2.37 g, 17.4 mmol, 3 eq) was added. The mixture was cooled to 0°C with an ice-bath. A solution of *tert*-butyl bromoacetate (2.55 mL, 17.4 mmol, 3 eq) in N,N-dimethylacetamide (6 mL) was added drop-wise. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 days. A precipitate was formed after 1 hour. Water was poured in the reaction mixture until the solution became clear. NaHCO_3 was added portion-wise until the formation of a precipitate. It was filtered and washed with water. The

precipitate was redissolved in chloroform and washed with water. The organic phase was dried and concentrated under vacuo until 10 mL of mixture. Diethylether (75 mL) was added. The precipitate formed was filtered and washed with cold diethylether. The product **12** was obtained as a white powder (2 g, 67%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3.38 (s, 4H), 3.30 (s, 2H), 3.11 (t, *J* = 4.9 Hz, 4H), 2.92 (s, 8H), 2.89 (s, 4H), 1.46 (s, 18H), 1.46 (s, 9H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 170.60, 169.74, 81.93, 81.78, 65.95, 58.33, 51.49, 49.35, 48.92, 47.65, 28.35, 28.31.

Compound (13)^[10]

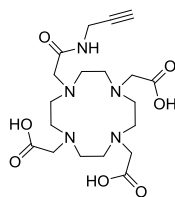


Under argon, **12** (3 g, 5.8 mmol, 1 eq), 2-bromo-*N*-(prop-2-ynyl)acetamide **17** (1.02 g, 5.80 mmol, 1 eq) and potassium carbonate (2.61 g, 18.8 mmol, 3.24 eq) were dissolved in distilled acetonitrile (60 ml). The mixture was stirred at room temperature for 18 hours. Then, the solvent was removed and the product was dissolved in chloroform and washed by a solution of sodium carbonate 5% (3x10 ml). The organic layer was dried over MgSO₄ and filtered. Chloroform was then removed under reduced pressure to yield a white solid **13** (3.41g, 96%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.24 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H), 4.04 (dd, *J* = 5.6, 2.5 Hz, 2H), 3.37 (s, 2H), 3.26 (s, 4H), 3.09 (s, 2H), 2.95 – 2.87 (m, 4H), 2.82 (t, *J* = 4.8 Hz, 4H), 2.69 (t, *J* = 4.7 Hz, 4H), 2.50 (dd, *J* = 6.0, 3.3 Hz, 4H), 2.14 (t, *J* = 2.5 Hz, 1H), 1.45 (s, 9H), 1.44 (s, 18H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 172.21 , 170.94 , 81.26 , 81.05 , 80.94 , 70.29 , 57.88 , 56.69 , 56.40 , 55.41 , 53.89 , 52.65 , 52.31 , 28.72 , 28.42 , 28.39

Compound (14)

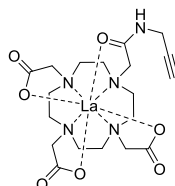


In a round bottom flask, **13** (3.17 g, 5.20 mmol) and trifluoroacetic acid (12 ml, 0.16 mol) in dichloromethane (40 ml) were stirred 24 h at room temperature. Diethylether (110 ml) was added to yield a white precipitate. The precipitate was filtered, washed with diethylether and dried to yield a white solid **14** (3.6 g, 95%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 3.93 (s, 2H), 3.96-3.76 (s broad, 6H), 3.53-3.10 (s broad, 18H), 2.56 (s, 1H).

¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 162.84, 116.31, 79.39 , 72.05 , 54.89 , 53.73 , 50.01, 48.86 , 28.76 , 27.2

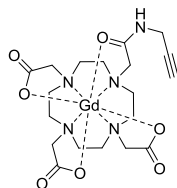
Compound (15)^[122]



In a round bottom flask, **14** (1.17 g, 1.50 mmol, 1 eq), lanthanum(III) nitrate hexahydrate (0.71 g, 1.65 mmol, 1.1 eq) in distilled water (12 ml) was stirred ten minutes at room temperature. Then, a solution of sodium hydroxide (1M, 7 ml) was added slowly to maintain the pH at 7 (controlled by pH paper indicator). The solution was stirred at room temperature overnight. Solvent was removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 20-40% to obtain a white solid **16** (0.85 g, 98%).

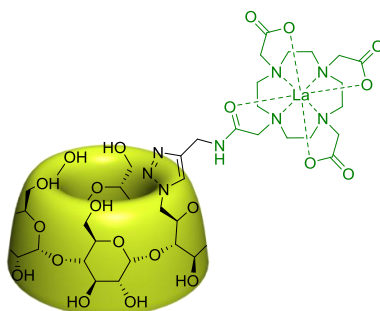
¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 4.05 (s, 2H), 3.95 – 2.17 (m broad, 25H).

¹³C NMR (101 MHz, D₂O) δ 179.50 , 179.38 , 175.28 , 60.96 , 60.73 , 58.62 , 53.56 , 49.76 , 29.49.

Compound (16)

In a round bottom flask, **14** (1.17 g, 1.50 mmol, 1 eq), gadolinium(III) chloride hexahydrate (0.62 g, 1.65 mmol, 1.1 eq) in distilled water (12 ml) was stirred ten minutes at room temperature. Then, a solution of sodium hydroxide (1M, 9 ml) was added slowly to maintain the pH at 7 (controlled by pH paper paper indicator). The solution was stirred at room temperature overnight. Solvent was removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 10-40% (0.86 g, 96%).

MS: (ESI) m/z 619.12 [M+Na]⁺

CDLa (18)

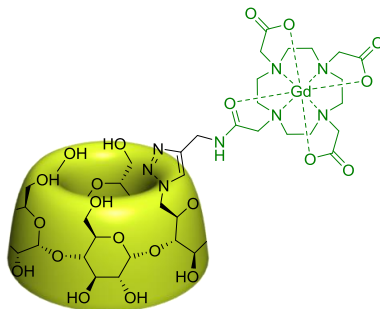
A solution of **15** (127 mg, 0.22 mmol, 1.1 eq) and α -cyclodextrin-N₃ (**9**) (200 mg, 0.20 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (5 ml) and distilled water (5 ml) in a Schlenk-flask was flushed with argon for 10 minutes. Then, copper(II) sulfate pentahydrate (30 mg, 0.12 mmol), PMDETA (20 mg, 25 μ l, 0.12 mmol) and sodium ascorbate (47 mg, 0.24 mmol) were added. The solution was stirred under argon at room temperature for 48 hours. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography, using ACN/H₂O 10-50% as eluent, to yield a white solid (242 mg, 77%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.06 (s, 1H), 5.22 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.18 – 5.07 (m, 4H), 5.03 (m, 2H), 4.71 – 4.54 (m, 3H), 4.21 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 4.13 – 3.84 (m, 19H), 3.80 (dd, J = 12.3, 4.6 Hz, 2H), 3.76 – 3.50 (m, 16H), 3.51 – 2.21 (m, 22H).

^{13}C NMR (151 MHz, D_2O) δ 179.45, 179.24, 175.53, 143.34, 101.50, 101.47, 101.33, 101.32, 100.99, 73.30, 73.26, 73.20, 73.03, 72.80, 72.17, 72.02, 71.96, 71.94, 71.66, 71.64, 71.52, 71.43, 69.58, 60.54, 60.46, 60.41, 59.16, 53.68, 51.36, 49.38, 34.92.

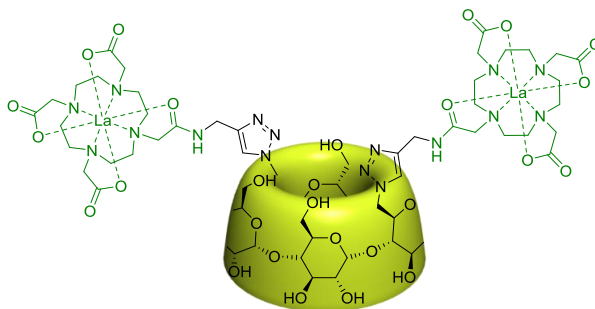
HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{55}\text{H}_{87}\text{LaN}_8\text{O}_{36}\text{Na}$) 1597.4186; found 1597.4179

CDGd (19)



A solution of **16** (131 mg, 0.22 mmol, 1.1 eq) and α -cyclodextrin- N_3 (**9**) (200 mg, 0.20 mmol) in dimethylformamide (5 ml) and distilled water (5 ml) in a Schlenk-flask was flushed with argon for 10 minutes. Then, copper(II) sulfate pentahydrate (30 mg, 0.12 mmol), N,N,N',N'',N'' -Pentamethyldiethylenetriamine (20 mg, 25 μl , 0.12 mmol) and sodium ascorbate (47 mg, 0.24 mmol) were added. The solution was stirred under argon at room temperature for 48 hours. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/ H_2O 10-50% as eluent to yield a white solid (255 mg, 80%).

HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{55}\text{H}_{87}\text{GdN}_8\text{O}_{36}\text{Na}$) 1616.4423; found 1616.4371

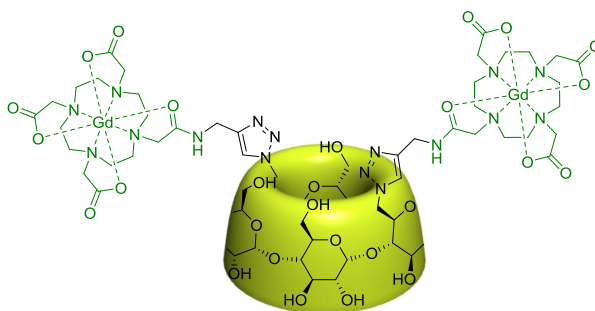
CDLa₂ (20)

A solution of **15** (124 mg, 0.22 mmol, 2.2 eq) and α -cyclodextrin-(N₃)₂ **10** (100 mg, 0.10 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (2.5 ml) and distilled water (2.5 ml) in a Schlenk was flushed with argon for 10 minutes. Then, copper(II) sulfate pentahydrate (30 mg, 0.12 mmol, 1.2 eq), N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine (25 μ l, 0.12 mmol, 1.2 eq) and sodium ascorbate (47 mg, 0.24 mmol, 2.4 eq) were added. The solution was stirred under argon at room temperature for 48 hours. **15** (28 mg, 0.05 mmol), copper(II) sulfate pentahydrate (15 mg, 0.06 mmol), N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine (10 mg, 12 μ l, 0.06 mmol) and sodium ascorbate (23 mg, 0.12 mmol) were added. The solution was stirred at room temperature for 24 hours. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 10-70% to yield a white solid (150 mg, 70%).

¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 8.06 (s, 2H), 5.21 (d, J = 3.6 Hz, 2H), 5.15 (d, J = 13.7 Hz, 2H), 5.05 (d, J = 3.5 Hz, 2H), 5.01 (s, 2H), 4.67 (t, J = 12.7 Hz, 3H), 4.60 (s, 2H), 4.40 – 4.22 (s broad, 2H), 4.05 (m, J = 9.0, 3.0 Hz, 6H), 3.97 (d, J = 10.3 Hz, 5H), 3.83 – 3.73 (m, 5H), 3.73 – 3.66 (m, 5H), 3.64 – 3.53 (m, 11H), 3.52 – 2.27 (m, 49H).

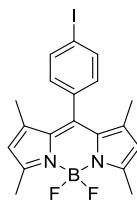
¹³C NMR (151 MHz, D₂O) δ 179.45, 179.23, 175.53, 101.66, 101.44, 100.72, 83.04, 81.56, 80.45, 73.22, 72.88, 72.84, 72.33, 71.61, 71.49, 71.43, 60.80, 60.53, 59.18, 58.44, 53.52, 51.39, 49.25, 34.81.

HRMS (ESI): m/z calc [M+2Na]²⁺ (C₇₄H₁₁₄La₂N₁₆O₄₂Na₂) 1111.2594; found 1111.2527 (100%), [M+Na]⁺ (C₇₄H₁₁₄La₂N₁₆O₄₂Na) 2199.5296; found 2199.5287 (50%).

CDGd₂ (21)

A solution of **16** (128 mg, 0.22 mmol, 2.2 eq) and α -cyclodextrin-(N₃)₂ **10** (100 mg, 0.10 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (2.5 ml) and distilled water (2.5 ml) in a Schlenk was flushed with argon for 10 minutes. Then, copper(II) sulfate pentahydrate (30 mg, 0.12 mmol, 1.2 eq), PMDETA (25 μ l, 0.12 mmol, 1.2 eq) and sodium ascorbate (47 mg, 0.24 mmol, 2.4 eq) were added. The solution was stirred under argon at room temperature for 48 hours. **16** (36 mg, 0.06 mmol), copper(II) sulfate pentahydrate (15 mg, 0.06 mmol), N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine (10 mg, 12 μ l, 0.06 mmol) and sodium ascorbate (23 mg, 0.12 mmol) were added. The solution was stirred at room temperature for 24 hours. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 10-70% to yield a white solid (193 mg, 88%).

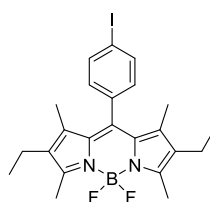
HRMS (ESI): m/z calc [M+2Na]²⁺ (C₇₄H₁₁₄Gd₂N₁₆O₄₂Na₂) 1130.2771; found 1130.2810 (100%), [M+Na]⁺ (C₇₄H₁₁₄Gd₂N₁₆O₄₂Na) 2237.5651; found 2237.5664 (100%).

Synthesis of BODPY derivatives**4-iodophenylBODIPY (22)^[84]**

Para-iodobenzoyl chloride (2.94 g, 11.1 mmol, 1 eq) was added to a 250 mL round bottom flask under argon atmosphere and then was dissolved in 100 mL of distilled dichloromethane. 2,4-dimethylpyrrole (2.5 mL, 17 mmol, 2.2 eq) was added via a syringe at room temperature

and the mixture was stirred 15 hours at reflux. It was then cooled to room temperature, and triethylamine (5 mL) and borontrifluoride etherate (5 mL) were added dropwise. The mixture was heated at reflux for 2 hours. The solvent was removed in vacuo. The residue was washed with 3x50 mL of distilled water and purified on silica gel column using 98:2 v/v cyclohexane/EtOAc as eluent to give **22** as an orange solid with metallic luster (1.55 g, 31 %). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.85 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 5.99 (s, 2H), 2.55 (s, 5H), 1.42 (s, 7H).

para-iodophenylethylBODIPY (**23**)^[83]

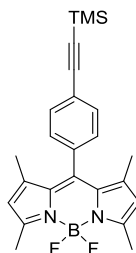


3-Ethyl-2,4-dimethylpyrrole (3.4 mL, 22.8 mmol, 2.02 eq) was added slowly to a stirred solution of 4-iodobenzoyl chloride (3.0 g, 11.3 mmol, 1 eq) in dry dichloromethane (120 mL) under argon. The mixture was stirred at reflux for 20 h under argon. The solution was cooled down to room temperature. Triethylamine (5 mL, 35.9 mmol) was added dropwise to the stirred mixture. Then, boron trifluoride diethyl etherate (5 mL, 40.5 mmol) was added dropwise. The solution was stirred for 4 h at reflux. The mixture was washed with water (3x50 mL) and dried over MgSO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure. Flash chromatography (Cy/AcOEt 0-5%) was performed to yield a red solid **23** (590 mg, 10%).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, Chloroform- d) δ 7.84 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.05 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 2.52 (s, 6H), 2.30 (q, J = 7.5 Hz, 4H), 1.32 (s, 6H), 0.98 (t, J = 7.5 Hz, 6H).

$^{13}\text{C NMR}$ (100 MHz, Chloroform- d) δ 154.1, 138.5, 138.2, 138.1, 135.4, 133.0, 130.5, 130.3, 94.5 (Cq), 17.1 (CH_2), 14.6 (CH_3), 12.5 (CH_3), 12.0 (CH_3).

TMS-protected BODIPY (**24**)^[84]

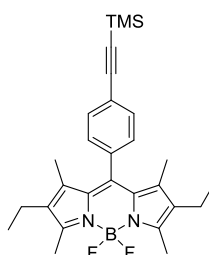


In a Schlenk tube, BODIPY **22** (1.4 g, 3.11 mmol, 1 eq), Pd(PPh₃)Cl₂ (218 mg, 0.31 mmol, 0.1 eq) and CuI (118 mg, 0.62 mmol, 0.2 eq) were added under argon atmosphere. Distilled tetrahydrofuran (40 mL) and triethylamine (20 mL) were degassed by argon bubbling for 30 min and added to the schlenk. The mixture was stirred for 10 min and TMSA (0.57 mL, 4.04 mmol, 1.3 eq) was added dropwise via a syringe. The mixture was stirred at room temperature overnight and purified by flash column chromatography, using cyclohexane/ethylacetate (98:2) as eluent to provide **24** as an orange solid (1.19 g, 91%).

¹H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ 7.60 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.24 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 5.98 (s, 2H), 2.55 (s, 6H), 1.40 (s, 6H), 0.28 (s, 9H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 155.91, 143.13, 140.90, 135.36, 132.85, 131.31, 128.23, 124.09, 121.49, 104.34, 95.98, 14.74, 0.04.

TMS-protected ethylBODIPY **25**^[83]



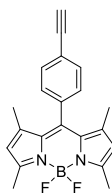
In a Schlenk flask, **23** (400 mg, 0.79 mmol, 1 eq), dichlorobis(triphenylphosphine)palladium(II) (55 mg, 0.08 mmol, 10%), and copper(I) iodide (30 mg, 0.16 mmol, 20%) were put under argon. THF and Et₃N were degassed with a stream of argon for 30 minutes. The solvents were added to the Schlenk flask. Trimethylsilylacetylene (TMSA) (0.15 mL, 1.03 mmol) was added slowly. The solution was stirred for 6 hours at room temperature. The solvents were removed in vacuo. The solid was

purified by flash chromatography, using Cy/AcOEt 0-5%, to yield a red solid **25** (320 mg, 85%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.59 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.24 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 2.53 (s, 6H), 2.30 (q, J = 7.5 Hz, 2H), 1.30 (s, 6H), 0.98 (t, J = 7.6 Hz, 6H), 0.29 (s, 9H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 154.17, 139.36, 138.36, 136.25, 133.06, 132.77, 130.66, 128.56, 123.84, 104.52, 95.77, 17.23, 14.74, 12.68, 12.04, 0.08.

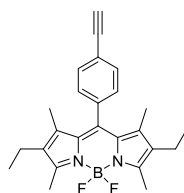
4-ethynylphenyl BODIPY (**26**)^[123]



A 250 mL round-bottomed flask was charged with BODIPY **24** (1.1g, 2.64 mmol, 1 eq) and tetrahydrofuran (25 mL). Methanol (25 mL) and potassium carbonate (730 mg, 5.28 mmol, 2 eq) were added. The mixture was stirred for 2 hours at room temperature and purified on silica plug with dichloromethane and cyclohexane as eluent to provide **26** as dark red solid (854 mg, 93%).

^1H NMR (400 MHz, Chloroform- d) δ 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.26 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 5.98 (s, 2H), 3.18 (s, 1H), 2.55 (s, 6H), 1.40 (s, 6H).

4-ethynylphenyl ethylBODIPY (**27**)^[83]

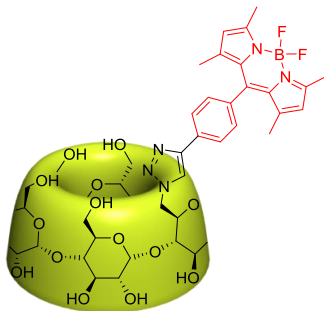


A solution of **25** (320 mg, 0.67 mmol, 1 eq) and potassium carbonate (185 mg, 1.34 mmol, 2 eq) in methanol (5 mL) and tetrahydrofuran (5 mL) was stirred for 30 minutes at room temperature. Then, dichloromethane (20 mL) was added to the mixture. The mixture was filtered on a silica plug and the solvents were evaporated under reduced pressure to yield a red powder (250 mg, 92%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.27 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 3.18 (s, 1H), 2.53 (s, 6H), 2.30 (q, J = 7.6 Hz, 4H), 1.30 (s, 3H), 0.98 (t, J = 7.6 Hz, 6H).

^{13}C NMR (101 MHz, CDCl_3) δ 154.23, 139.15, 138.32, 136.61, 133.12, 132.90, 130.63, 128.67, 122.84, 83.17, 78.53, 17.22, 14.74, 12.68, 12.01.

CD-Bod1 (28)

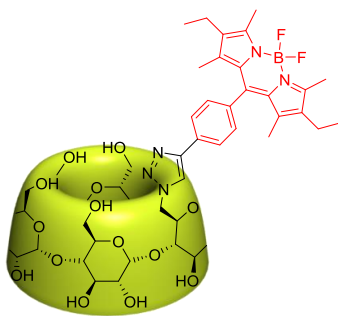


A 50 mL round-bottom flask was charged with α -cyclodextrin monoazide **9** (257 mg, 0.26 mmol, 1 eq), **26** (90 mg, 1.2 eq) and water (5 mL). Copper sulfate pentahydrate (25 mg, 0.1 mmol, 0.4 eq), sodium ascorbate (81 mg, 0.41 mmol, 1.6 eq) and PMDETA (18 mg, 0.41 mmol, 0.4 eq) in dimethylformamide (10 mL) were added. The mixture was stirred for 2 hours at room temperature and concentrated under vacuo. The residue was purified by flash column chromatography, using 8:2 v/v acetonitrile/water as eluent. The dark red solid obtained was freeze-dried to provide **7** as a red powder (283 mg, 81 %).

^1H NMR (600 MHz, DMSO): δ 8.57 (s, 1H), 8.06 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.44 (d, J = 8 Hz, 2H), 6.20 (s, 2H), 5.38-5.66 (m, 16H), 5.11 (m, 2H), 4.75-4.93 (m, 10H), 4.45-4.63 (m, 6H), 4.11 (m, 2H), 3.40-3.86 (m, 36H), 2.46 (s, 6H), 1.43 (s, 6H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO): δ 155.40, 145.84, 143.26, 142.15, 133.77, 132.01, 131.17, 128.91, 126.44, 126.41, 124.09, 102.53, 102.44, 102.23, 102.16, 73.73, 73.51, 73.26, 72.78, 72.60, 72.55, 72.46, 72.43, 72.18, 69.97, 60.67, 60.45, 60.35, 60.08, 50.73, 40.52, 14.68.

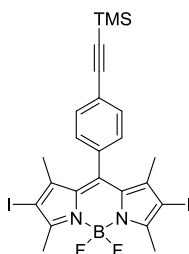
MS (ESI) : m/z 1368.8 $[\text{M}+\text{Na}]^+$

CD-Bod2 (29)

A solution of **27** (73 mg, 0.18 mmol, 1.2 eq), α -cyclodextrin- N_3 **9** (150 mg, 0.15 mmol, 1 eq), copper(II) sulfate pentahydrate (30 mg, 0.12 mmol, 0.8 eq), sodium ascorbate (47 mg, 0.24 mmol, 1.6 eq) and N,N,N',N'',N'' -Pentamethyldiethylenetriamine (21 mg, 25 μ l, 0.12 mmol) in a Schlenk flask was put under argon pressure. Dimethylformamide (15 ml) and distilled water (15 ml) were put under argon for 30 minutes. Then, the solvents were added into the Schlenk flask. The mixture was stirred at 40°C for 6 hours under argon pressure. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 5-30% to yield a red solid **29** (68 mg, 32%).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 8.48 (s, 1H), 8.06 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.42 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 5.18 (d, J = 3.2 Hz, 2H), 5.09 (m, , 7H), 4.27 (s, 2H), 3.94 (m, 21H), 3.53 (m, 10H), 2.48 (s, 6H), 2.36 (q, J = 7.5 Hz, 4H), 1.41 (s, 6H), 0.99 (t, J = 7.5 Hz, 6H).

HRMS (ESI): m/z calc [M+Na]⁺ (C₆₁H₈₆BF₂N₅O₂₉Na) 1424.5362; found 1424.5407.

DiidoBodipy (31)^[84]

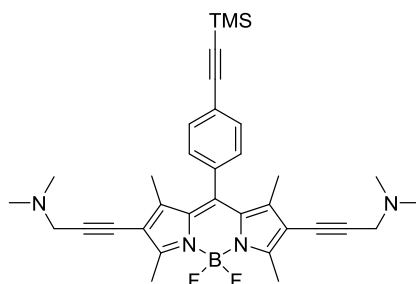
A 250 mL round-bottomed flask under argon atmosphere was charged with **24** (500 mg, 1.19 mmol, 1 eq) and distilled dichloromethane (10 mL). N -iodosuccinimide (668 mg, 2.87 mmol, 2.5 eq) was dissolved in distilled dichloromethane (10 mL) and anhydrous dimethylformamide (5 mL), then added to the previous mixture. The orange solution was

stirred at room temperature for 15 hours. Dichloromethane was removed under vacuo from the red solution obtained, and was treated with 100 mL of distilled water. The mixture was then extracted with 3x100 mL of diethylether, dried on MgSO_4 and concentrated under vacuo. The residue was purified by flash column chromatography, using cyclohexane/dichloromethane (6:4) to provide **31** as a dark red solid (530 mg, 59 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7.66 – 7.60 (m, 2H), 7.23 – 7.18 (m, 2H), 2.64 (s, 6H), 1.41 (s, 6H), 0.29 (s, 9H).

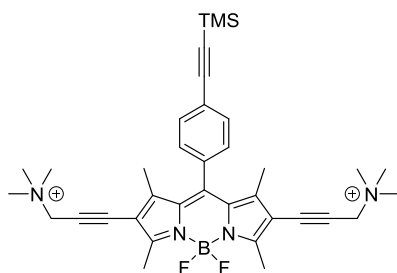
^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ 157.23, 145.33, 140.53, 134.95, 133.12, 131.18, 128.05, 124.71, 104.01, 96.63, 85.97, 29.87, 17.36, 16.22, 0.02.

DiaminoBodipy (**32**)



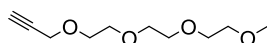
In a Schlenk flask, **31** (290 mg, 0.34 mmol, 1 eq), dichlorobis(triphenylphosphine)palladium(II) (26 mg, 0.04 mmol, 10%), and copper(I) iodide (14 mg, 0.08 mmol, 20%) were put under argon. THF (20 mL) and Et_3N (7 mL) were degassed with a stream of argon for 30 minutes. The solvents were added to the Schlenk flask. 1-dimethylamino-2-propyne (103 μL , 0.97 mmol, 2.5 eq) was added slowly. The solution was stirred for 15 hours at 60°C . The solvents were removed in vacuo. The solid was purified by flash chromatography, using $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, to yield a red solid **32** (90 mg, 40%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.62 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.21 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 3.57 (s, 4H), 2.63 (s, 6H), 2.37 (s, 12H), 1.47 (s, 6H), 0.28 (s, 9H).

DiammoniumBodipy (33)

In a Schlenk flask, **32** (50 mg, 0.9 mmol, 1 eq) was put under argon. Distilled THF (6 mL) and iodomethane (52 μ L, 0.86 mmol, 10 eq) were added and the reaction mixture was stirred for 15 hours at room temperature. The mixture was filtrated to obtain the product as a deep purple solid **33** (54 mg, 73%).

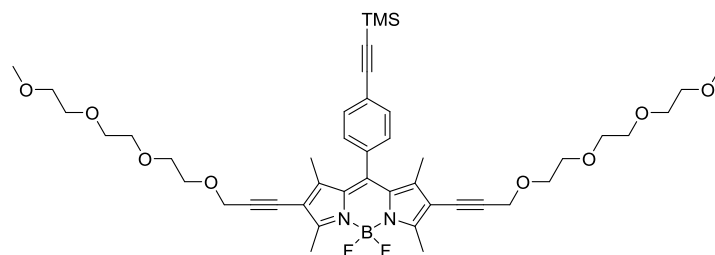
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7.70 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.40 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 4.62 (s, 4H), 3.27 (s, 24H), 2.67 (s, 6H), 1.61 (s, 6H), 0.29 (s, 9H).

BrasPEG (36)^[124]

To a solution of glycol **35** (1.95 mL, 12.18 mmol, 1 eq) in DMF (10 mL) was added NaH (60% in mineral oil) (210 mg, 14.62 mmol, 1.20 eq). The mixture was stirred for 5 min. Then propargylbromide (80% in toluene) (1.83 mL, 16.44 mmol, 1.35 eq) was added dropwise. The product was purified by flash chromatography ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 9/1) to obtain an oil (2 g, 81%)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.20 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 3.73 – 3.61 (m, 10H), 3.57 – 3.52 (m, 2H), 3.38 (s, J = 0.6 Hz, 3H), 2.42 (t, J = 2.4 Hz, 1H).

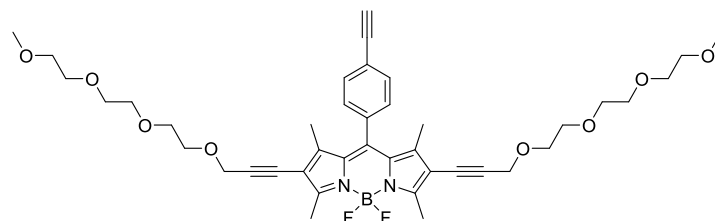
BodipyPEG-TMS (37)



In a schlenk tube, BODIPY **31** (200 mg, 0.266 mmol, 1 eq), Pd(PPh₃)Cl₂ (6 mg, 0.01 mmol, 4%) and CuI (4 mg, 0.02 mmol, 8%) were added under argon atmosphere. Distilled tetrahydrofuran (10 mL), triethylamine (6 mL) and **36** (134 μ L, 0.665 mmol, 2.5 eq) were degassed and added to the schlenck. The mixture was stirred at 60 °C for 1 hr and purified by flash column chromatography, using cyclohexane/ethylacetate (2:8) as eluent to provide **37** as red oil (190 mg, 87 %).

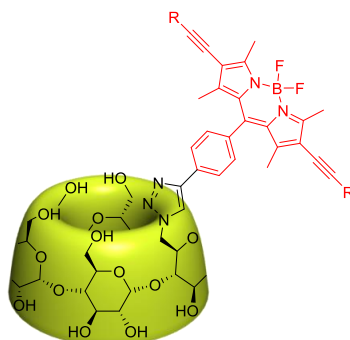
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.71 – 7.56 (m, 2H), 7.24 – 7.16 (m, 2H), 4.43 (s, 4H), 3.78 – 3.59 (m, 20H), 3.58 – 3.45 (m, 4H), 3.37 (s, 6H), 2.62 (s, 6H), 1.46 (s, 6H), 0.29 (s, 9H)

BodipyPEG-deprotected (38)



A 50 mL round-bottomed flask was charged with BODIPY **37** (272 mg, 0.331 mmol, 1 eq) and tetrahydrofurane (6 mL). Potassium carbonate (91 mg, 0.662 mmol, 2 eq) and methanol (6 mL) were added, and the mixture was stirred at room temperature for 1 hour. Purification was done on silica plug with dichloromethane to provide **39** as a purple-red oil (191 mg, 0.25 mmol, 77 %).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.65 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.25 – 7.22 (m, 2H), 4.43 (s, 4H), 3.76 – 3.58 (m, 20H), 3.58 – 3.47 (m, 4H), 3.37 (s, 6H), 2.63 (s, 6H), 1.46 (s, 6H)

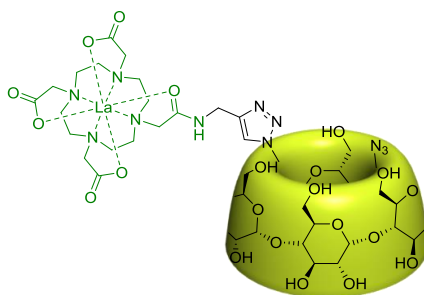
CD-Bod-PEG (39)

A 50 mL round-bottomed flask was charged with α -cyclodextrin monoazide **9** (101 mg, 0.102 mmol, 1 eq), BODIPY **38** (100 mg, 0.133 mmol, 1.3 eq) and water (3 mL). Copper sulfate pentahydrate (10 mg, 0.04 mmol, 0.4 eq), sodium ascorbate (32 mg, 0.16 mmol, 1.6 eq) and PMDETA (7 mg, 0.04 mmol, 0.4 eq) in dimethylformamide (5 mL) were added. The mixture was stirred for 2 hours at room temperature and concentrated under vacuo. The residue was purified by flash column chromatography, using acetonitrile/water (8:2) as eluent. The dark red solid obtained is freeze-dried to provide **39** as a pink powder (168 mg, 95 %).

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.41 (s, 1H), 8.02 (s, 2H), 7.26 (s, 2H), 5.29 (s, 1H), 5.24 – 5.02 (m, 7H), 4.49 (s, 4H), 4.22 (s, 1H), 4.14 – 3.89 (m, 22H), 3.89 – 3.52 (m, 41H), 3.41 (d, $J = 33.1$ Hz, 6H), 2.62 (s, 6H), 1.53 (s, 6H)

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 157.60, 145.06, 122.17, 101.80, 94.46, 93.24, 87.40, 81.83, 80.78, 73.10, 71.93, 71.10, 69.91, 69.59, 69.40, 69.37, 68.47, 68.34, 67.11, 58.06, 57.94, 57.86, 52.46, 25.14, 13.10.

CD-La-N₃ (40)

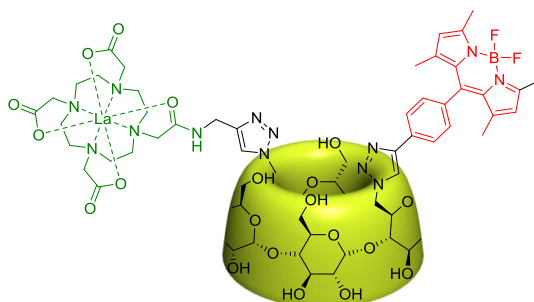


A solution of **15** (56.5 mg, 0.10 mmol, 1 eq) and α -cyclodextrin-(N₃)₂ **10** (100 mg, 0.10 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (1.5 ml) and distilled water (1.5 ml) was put under argon for 10 minutes. Then, copper(II) sulfate pentahydrate (14.7 mg, 0.06 mmol, 0.6 eq), N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine (12.2 μ l, 0.06 mmol, 0.6 eq) and sodium ascorbate (23.3 mg, 0.12 mmol, 1.2 eq) were added. The solution was stirred under argon at room temperature for 24 hours. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 10-70% as eluent to yield a white solid (70 mg, 45%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.05 (s, 1H, triaz), 5.22 (d, J = 3.5 Hz, 1H), 5.15 – 5.08 (m, 4H), 5.06 – 4.99 (m, 2H), 4.71 – 4.51 (m, 3H), 4.23 (t, J = 9.5 Hz, 1H), 4.12 – 3.82 (m, 16H), 3.80 – 2.35 (m, 42H)

HRMS (ESI): m/z calc [M+Na]⁺ (C₅₅H₈₆LaN₁₁O₃₅Na) 1622.4243; found 1622.4054.

CD-La-Bod1 (41)



A solution of **28** (17 mg, 0.049 mmol, 1.3 eq) and **40** (60 mg, 0.038 mmol, 1 eq) in dimethylformamide (9.0 ml) and distilled water (4.5 ml) was put under argon for 10 minutes. Then, copper(II) sulfate pentahydrate (7.5 mg, 0.030 mmol, 0.8 eq), N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamine (6.3 μ l, 0.030 mmol, 0.8 eq) and sodium ascorbate (11.9 mg,

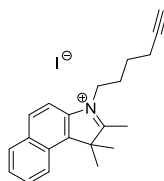
0.06 mmol, 1.6 eq) were added. The solution was stirred under argon at room temperature for 24 hours. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 10-70% to yield an orange solid **41** (57 mg, 78%).

¹H NMR (600 MHz, D₂O/CD₃CN) δ 8.55 (s, 1H), 8.10 (s, 2H), 8.05 (s, 1H), 7.38 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 6.26 (s, 2H), 5.37 – 5.18 (m, 3H), 5.16 – 4.97 (m, 6H), 4.27 (t, J = 9.8 Hz, 1H), 4.21 (s, 1H), 4.13 (s, 1H), 4.07 – 3.89 (m, 10H), 3.87 – 3.53 (m, 22H), 3.41 (s, 8H), 2.55 (s, 6H), 2.45 (s, 9H), 1.53 (s, 6H).

HRMS (ESI): m/z calc [M+Na]⁺ [C₇₆H₁₀₅BF₂LaN₁₃O₃₅Na]⁺ 1970.5853; found 1970.5797.

Synthesis of cyanine derivatives

Benzindolium alkyne (**43**)



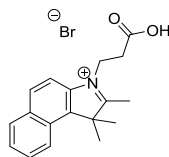
To a solution of 6-iodohexyne (1.14 g, 5.48 mmol, 2.1 eq) in CH₃CN (40 mL) was added 1,1,2-trimethyl[1H]benz[e]indole (0.55 g, 2.62 mmol, 1 eq). The resulting solution was heated in a sealed vial at 150°C for 2h under microwave irradiation. After cooling to room temperature, the yellow solution was evaporated and dried under vacuum overnight. The residue was washed with Et₂O (2x150mL) and filtered. The green oily residue was dissolved in acetone and precipitated with Et₂O. The residue was recrystallized from a mixture of CH₃CN (8 mL) and Et₂O (40 mL) to yield a green powder **43** (0.45g, 41%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.37 (d, J =8.4, 1H), 8.30 (d, J =8.9, 1H), 8.22 (d, J =7.8, 1H), 8.15 (d, J =8.9, 1H), 7.82 – 7.76 (m, 1H), 7.76 – 7.70 (m, 1H), 4.60 (t, J =7.7, 2H), 2.94 (s, 3H), 2.83 (t, J =2.6, 1H), 2.28 (td, J =7.0, 2.5, 2H), 2.04 – 1.94 (m, 2H), 1.76 (s, 6H), 1.69 – 1.61 (m, 2H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ = 196.4 (C_{quat}), 138.5 (C_{quat}), 137.0 (C_{quat}), 133.0 (C_{quat}), 130.6 (CH), 129.7 (CH), 128.4 (CH), 127.2 (CH), 127.2 (C_{quat}), 123.4 (CH), 113.2 (CH), 83.9 (CH), 71.7 (CH), 55.5 (C_{quat}), 47.3 (CH₂), 26.6 (CH₂), 24.8 (CH₂), 21.6 (CH₃), 17.3 (CH₂), 13.9 (CH₃).

MS (ESI): m/z calc $[\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}^+]$ 290.19; found 290.19, $[\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{IN-H}]^+$ 418.10; found 418.10

Benzindolium acid (44)^[125]



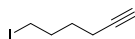
A mixture of 1,1,2-trimethyl-[1H]-benz[e]indole (5.0g, 23.9 mmol, 1 eq) and 3-bromopropionic acid (5.43g, 35.5 mmol, 1.5 eq) in 1,2-dichlorobenzene (25mL) was heated at 110°C for 18h. After cooling to RT, the precipitate was filtered and washed thoroughly with CH_2Cl_2 (\approx 500mL) until a white powder was obtained. The resulting powder was dried under vacuum overnight (6.47g, 75%).

^1H NMR (400 MHz, DMSO) δ = 8.35 (d, J =8.4, 1H), 8.27 (d, J =8.9, 1H), 8.21 (d, J =8.1, 1H), 8.16 (d, J =8.9, 1H), 7.82 – 7.75 (m, 1H), 7.75 – 7.68 (m, 1H), 4.78 (t, J =6.9, 2H), 3.05 (t, J =6.9, 2H), 2.97 (s, 3H), 1.75 (s, 6H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ = 197.8 (C_{quat}), 171.5(C_{quat}), 138.3(C_{quat}), 136.8(C_{quat}), 133.0(C_{quat}), 130.7 (CH), 129.7 (CH), 128.4 (CH), 127.3 (CH), 127.2 (C_{quat}), 123.4 (CH), 113.4 (CH), 55.6 (C_{quat}), 43.8 (CH_2), 31.4 (CH_2), 21.5 (CH_3), 14.2 (CH_3).

MS (ESI): m/z Calc $[\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_2]^+$ 282.15; found: 282.15, $[\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{NO}_2\text{Na}]^+$ 304.13; found 304.13

Iodohexyne

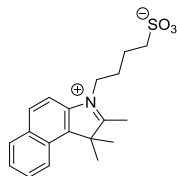


To a stirred suspension of sodium iodide (5.93g, 39.6 mmol, 6 eq) in acetone (30mL) was added dropwise 6-iodohexyne (0.8 mL, 6.6 mmol, 1 eq). The resulting solution was refluxed for 22h. The solvent was evaporated and water (30mL) was added to the yellow oily residue. The aqueous layer was extracted with Et_2O (3x30 mL). The combined organic layers were washed with brine (75 mL), dried over MgSO_4 , filtered and evaporated. A pale yellow oil was obtained (1.26 g, 87%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 3.21 (t, J =6.9, 2H), 2.23 (td, J =7.0, 2.6, 2H), 2.01 – 1.90 (m, 3H), 1.70 – 1.58 (m, 2H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ = 83.6 (C_{quat}), 68.8 (CH), 32.2 (CH_2), 29.1 (CH_2), 17.4 (CH_2), 5.9 (CH_2).

Benzindolium sulfonate (45)



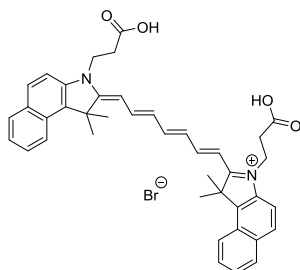
To a degassed solution of 1,1,2-trimethyl[1H]benz[e]indole (1.0 g, 4.78 mmol, 1 eq) in 1,2-dichlorobenzene (5 mL) was added 1,4-butanedisulfone (0.74 mL, 7.17 mmol, 1.5 eq). The resulting solution was heated at 120°C for 17h. After cooling to room temperature, a pale green precipitate was filtered and washed with acetone (3x20 mL) and dried in vacuo to yield a pale yellow green powder (0.9 g, 55%).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ = 8.32 (d, J =8.4, 1H), 8.24 (d, J =8.9, 1H), 8.16 (d, J =8.2, 1H), 8.06 (d, J =9.0, 1H), 7.80 (ddd, J =8.4, 6.9, 1.3, 1H), 7.72 (ddd, J =8.1, 7.0, 1.1, 1H), 4.67 (d, J =7.8, 2H), 2.91 (t, J =7.1, 2H), 2.28 – 2.17 (m, 2H), 2.04 – 1.94 (m, 2H), 1.84 (s, 6H).

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO) δ = 196.4 (C_{quat}), 138.6 (C_{quat}), 136.9 (C_{quat}), 133.0 (C_{quat}), 130.6 (CH), 129.7 (CH), 128.3 (CH), 127.2 (CH), 123.4 (CH), 113.5 (CH), 55.4 (C_{quat}), 50.1 (CH_2), 47.5 (CH_2), 26.2 (CH_2), 22.1 (CH_2), 21.6 (CH_3), 13.6 (CH_3).

MS (ESI): m/z Calc $[\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{S-H}]^+$ 346.15; found 346.15, $[\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{S-Na}]^+$ 368.13; found 368.13

Symetric Cyanine (47)



To a cooled solution of glutaconaldehyde dianil monohydrochloride (1g, 3.51 mmol, 1eq) and diisopropylethylamine (1.3 mL, 7.41 mmol, 2.1 eq) in CH_2Cl_2 (14 mL) was added dropwise a solution of Ac_2O (0.4 mL, 4.11 mmol, 1.2 eq) in CH_2Cl_2 (3.5 mL). The resulting red-orange

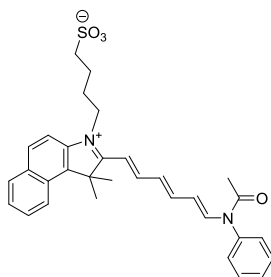
solution was stirred at RT for 1h and added dropwise to a refluxing solution of benzindolium bromide **44** (2.93 g, 8.07 mmol, 2.3 eq) and sodium acetate trihydrate (1.87 g, 13.73 mmol, 3.9 eq) in a mixture of acetonitrile/water (28.5 mL/1.5 mL). The resulting reddish solution was refluxed for 15h, cooled and filtered and washed with CH₃CN (2x80mL), an aqueous HCl 0.1M solution (2x80mL) and Et₂O (2x80mL). The green powder was dried under vacuum for 24h (2.44g, 99%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ = 8.23 (d, J =8.5, 2H), 8.12 – 7.94 (m, 6H), 7.80 (t, J =12.8, 2H), 7.71 (d, J =8.9, 2H), 7.64 (t, J =7.5, 2H), 7.49 (t, J =7.5, 2H), 6.59 (t, J =12.6, 2H), 6.45 (d, J =13.7, 2H), 4.43 (t, J =6.6, 4H), 2.77 (t, J =7.0, 4H), 1.90 (s, 12H).

¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ = 172.3 (C_{quat}), 139.7 (C_{quat}), 133.1 (C_{quat}), 131.2 (C_{quat}), 130.2 (CH), 129.9 (CH), 127.7 (CH), 127.6 (C_{quat}), 124.7 (CH), 122.2 (CH), 111.7 (CH), 50.4 (C_{quat}), 40.3 (CH₂), 32.8 (CH₂), 26.7 (CH₃).

MS (ESI): Calc m/z : [C₄₁H₄₁N₂O₄]⁺ 625.3061 ; found 625.31

Intermediate cyanine (50)



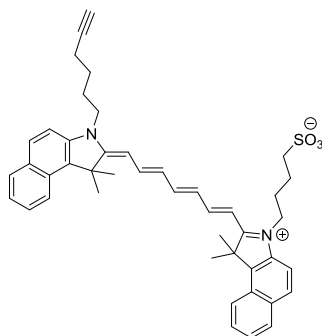
Benzindolium **45** (1.0 g, 2.89 mmol, 1 eq) and glutacanaldehydedianil hydrochloride (1.25 g, 4.39 mmol, 1.5 eq) were added to a solution of Ac₂O (12 mL) and pyridine (12 mL). The resulting mixture was stirred at RT for 1h20 in the darkness. Ether (~100 mL) was added and the purple precipitate was filtered and washed with Et₂O (2x20 mL). The residue was purified by flash chromatography (SiO₂, CH₂Cl₂/CH₃OH: 0 to 10%) to afford a red powder (1.17 g, 75%).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.40 – 8.33 (m, 1H), 8.25 – 8.20 (m, 2H), 8.17 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.76 (ddd, J = 8.4, 6.9, 1.3 Hz, 1H), 7.67 (ddd, J = 8.1, 6.9, 1.0 Hz, 1H), 7.64 – 7.54 (m, 4H), 7.41 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.07 (d, J = 15.2 Hz, 1H), 6.58 (dd, J = 14.3, 11.1 Hz, 1H), 5.23 (dd, J = 13.5, 11.6 Hz, 1H), 4.61 – 4.30 (m, 2H), 2.52 (d, J = 1.9 Hz, 2H), 1.96 (s, 3H), 1.91 (s, 8H), 1.77 (q, J = 7.3 Hz, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 180.85, 154.29, 150.03, 139.32, 138.59, 138.20, 137.47, 132.83, 130.93, 130.36, 129.99, 129.85, 129.40, 128.65, 128.55, 128.25, 126.87, 126.80, 122.99, 118.96, 113.08, 112.54, 112.39, 52.93, 50.19, 46.01, 26.85, 25.81, 23.13, 22.25.

HRMS (ESI): m/z calc $[\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{N}_2\text{SNa}]^+$ 565.2131, found 565.2124

Asymmetric cyanine (51)

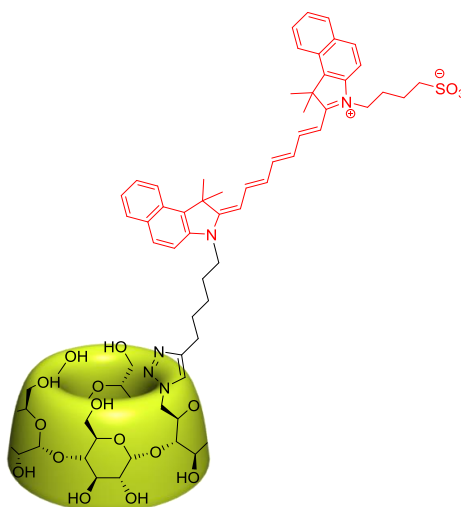


To a solution of hemicyanine **50** (141 mg, 0.26 mmol, 1eq) in pyridine (10 mL) was added benzindolium iodide **43** (108 mg, 0.26 mmol, 1 eq). The resulting mixture was heated at 50°C for 30 min. After cooling to RT, the green solution was poured onto ether (200 mL) to afford a dark green precipitate. The resulting green powder was purified by chromatography (SiO_2 , eluent $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$: 0 to 20%). A dark green powder was obtained (134 mg, 74%).

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.25 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H), 8.05 (m, 4H), 8.01 – 7.92 (m, 2H), 7.78 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 7.64 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.49 (dt, $J = 14.1$, 7.4 Hz, 2H), 6.79 – 6.50 (m, 1H), 6.40 (d, $J = 13.6$ Hz, 1H), 4.43 – 4.05 (m, 4H), 2.81 (s, 2H), 2.68 – 2.51 (m, 2H), 2.27 (td, $J = 7.0$, 2.6 Hz, 2H), 2.03 – 1.89 (m, 12H), 1.88 – 1.71 (m, 6H), 1.69 – 1.53 (m, 2H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 140.39, 133.86, 133.25, 131.80, 131.56, 130.80, 130.69, 130.35, 128.12, 125.27, 125.01, 122.72, 122.63, 112.26, 111.89, 84.60, 72.13, 70.26, 51.15, 51.04, 50.71, 44.29, 43.44, 27.34, 27.22, 26.84, 25.54, 22.96, 17.92.

CDCy (52)

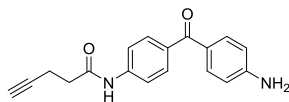


A solution of **9** (50 mg, 0.05 mmol, 1 eq), cyanine **51** (52 mg, 0.075 mmol, 1.5 eq), copper(II) sulfate pentahydrate (4.3 mg, 0.017 mmol, 0.34), sodium ascorbate (16 mg, 0.081 mmol, 1.62 eq) and PMDETA (4 μ l, 0.19 mmol, 0.38 eq) in a Schlenk flask was put under argon pressure. Dimethylformamide (10 ml) and distilled water (10 ml) were put under argon for 30 minutes. Then, the solvents were added into the Schlenk flask. The mixture was stirred at RT for 1 day under argon pressure. The solvents were removed and the product was purified by flash chromatography using ACN/H₂O 5-30% to yield a green solid **52** (48 mg, 85%).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 8.26 (t, J = 8.7 Hz, 2H), 8.07 (q, J = 8.7 Hz, 4H), 7.99 (dd, J = 21.5, 11.1 Hz, 1H), 7.79 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.71 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.68 – 7.62 (m, 2H), 7.54 – 7.48 (m, 2H), 7.45 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.72 – 6.50 (m, 4H), 6.43 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 5.64 – 5.37 (m, 12H), 5.03 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 4.85 – 4.76 (m, 6H), 4.62 – 4.44 (m, 6H), 4.23 (s, 4H), 4.00 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 3.88 – 3.56 (m, 11H), 3.34 (s, 20H), 2.72 (s, 2H), 2.54 – 2.53 (m, 2H), 1.99 – 1.87 (m, 12H), 1.91 – 1.85 (m, 2H), 1.80 (d, J = 6.7 Hz, 6H).

Photoluminescent complex based on Europium

Asymmetric antenna (**53**)



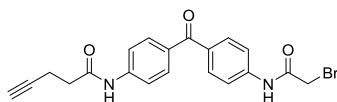
In a round bottom flask was added 4-pentynoic acid (0.55 g, 5.46 mmol, 1 eq.), 4,4'-diaminobenzophenone (1.78 g, 8.42 mmol, 1.5 eq), 1-hydroxybenzotriazole (0.76 g, 8.42 mmol, 1.5 eq.) and anhydrous DMF (100 mL). The mixture was cooled to 0 °C. A solution of DCC (1.73 g, 5.46 mmol, 1 eq.) in distilled dichloromethane (20 mL) was added dropwise under nitrogen atmosphere. The reaction mixture was allowed to go to room temperature and stirred for 15 hours. Water (6 mL) was added to the reaction. The precipitate was filtered. The filtrate was concentrated. The crude product was purified by silica gel chromatography (CH₂Cl₂/MeOH) to obtain the product as a yellow solid (0.63 g, 38%).

¹H NMR (400 MHz, acetone): δ 9.52 (s, 1H), 7.79 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.67 (d, J = 8 Hz, 2H), 7.61 (d, J = 12 Hz, 2H), 6.73 (d, J = 12 Hz, 2H), 2.65 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 2.37 (t, J = 4 Hz, 1H)

¹³C NMR (101 MHz, acetone): δ 193.2 (carbonyl), 170.6 (carbonyl), 153.80, 134.9, 133.3, 131.3, 126.6, 119.1, 113.8, 83.9, 70.4, 36.6, 14.9

HRMS (ESI): m/z calc [M+Na]⁺ (C₁₈H₁₆N₂O₂Na) 315.1117; found 315.1104.

Disubstituted antenna (**54**)

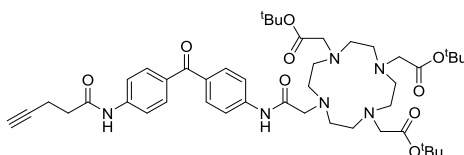


To a solution of the **53** (1.61 g, 5.51 mmol, 1 eq), bromoacetic acid (0.84 g, 6.06 mmol, 1.2 eq), 1-hydroxybenzotriazole (0.55 g, 4.06 mmol, 0.67 eq) in distilled acetonitrile (40 mL) at 0 °C was added dropwise a solution of DCC (1.25 g, 6.06 mmol, 1.10 eq). The mixture was stirred at room temperature for 15 hours. The solvent was evaporated. The residue was purified by gel silica chromatography with MeOH/CH₂Cl₂ (1/99) to obtain the product as a white solid (1.60 g, 70%).

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 10.72 (s, 1H), 10.34 (s, 1H), 8.06 – 7.40 (m, 8H), 4.09 (s, 2H), 3.17 (s, 2H), 2.81 (t, J = 2.6 Hz, 1H), 2.59 (m, 2H), 2.49 – 2.45 (m, 2H).

HRMS (ESI): m/z calc $[M+Na]^+$ ($C_{20}H_{17}N_2O_3$ BrNa) 435.0346; found 435.0315.

Compound (55)



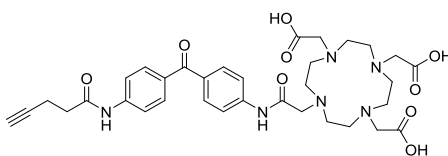
A round bottom flask was charged with cyclen **12** (0.90 g, 1.75 mmol, 1 eq), **54** (0.76 g, 1.84 mmol, 1.05 eq) and K_2CO_3 (0.78 g, 5.67 mmol, 3.24 eq). Distilled acetonitrile (60 mL) was added under nitrogen. The reaction mixture was stirred for 15 hours at room temperature. The solvent was removed and the residue was purified by flash chromatography with $CH_2Cl_2/MeOH$ to yield **55** as a light-brown solid (1.26 g, 85 %).

¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.65 (s, 1H), 10.10 (s, 1H), 8.16 – 7.77 (m, 4H), 7.88 – 7.42 (m, 4H), 3.81 – 2.00 (m, 15H), 1.95 (t, J = 2.6 Hz, 1H), 1.70 (br s, 2H), 1.42 (m, J = 22.9 Hz, 18H).

¹³C NMR (101 MHz, $CDCl_3$) δ 195.02, 172.47, 171.66, 170.83, 142.98, 132.82, 132.56, 131.13, 130.94, 119.32, 119.14, 83.46, 82.40, 82.26, 69.18, 57.15, 55.78, 53.55, 36.17, 28.37, 28.33, 28.26, 28.10, 28.07, 14.72.

HRMS (ESI): m/z calc $[M+Na]^+$ ($C_{46}H_{66}N_6O_9Na$) 869.4804; found 869.4783.

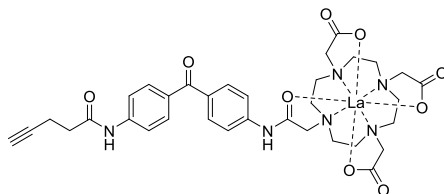
Compound (56)



To a round bottom flask were added the protected cyclen **55** (0.97 g, 1.14 mmol), CH_2Cl_2 (10 mL) and trifluoroacetic acid (7 mL). The reaction mixture was stirred 15 hours at room temperature. It was poured on 100 mL of diethylether. The precipitate formed was filtered and washed with diethylether. The product was obtained as a light-brown solid (1 g, 99%).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 9.31 (m, 8H), 6.02 - 4.43 (m, 24H), 4.24 - 4.16 (m, 2H), 4.16 - 4.08 (m, 2H), 3.85 (t, $J = 2.6$ Hz, 1H).

Antenna-La (57)



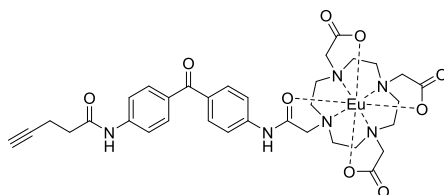
In a round bottom flask was added **56** (0.50 g, 0.52 mmol, 1 eq), lanthanum nitrate (0.27 g, 0.62 mmol, 1.2 eq) and water (10 mL). The pH was adjusted to 7 with solution of NaOH (1 M). The reaction mixture was stirred at room temperature for 15 hours. Water was evaporated and the residue was purified by gel silica chromatography with acetonitrile/ H_2O to afford the product as a light-yellow solid (275 mg, 65%)

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.68 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.58 (m, 6H), 4.33 – 2.13 (m, 29H).

^{13}C NMR (101 MHz, D_2O) δ 199.47, 181.87, 181.61, 177.06, 175.54, 144.54, 142.47, 136.29, 134.65, 134.16, 134.02, 123.10, 122.14, 86.11, 72.82, 63.24, 62.03, 56.34, 51.94, 37.85, 16.76.

HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_9$ LaNa) 837.1734; found 837.1732.

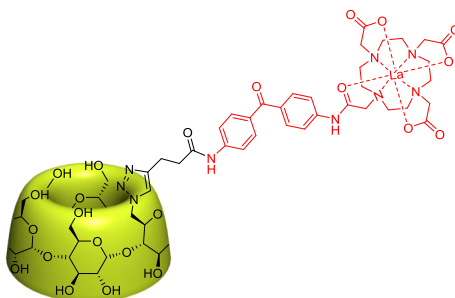
Antenna-Eu (58)



In a round bottom flask was added **56** (0.50 g, 0.52 mmol, 1 eq), europium chloride (0.27 g, 0.62 mmol, 1.2 eq) and water (10 mL). The pH was adjusted to 7 with solution of NaOH (1 M). The reaction mixture was stirred at room temperature for 15 hours. Water was evaporated and the residue was purified by gel silica chromatography with acetonitrile/ H_2O to get the product as a light-yellow solid (300 mg, 70%)

HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{34}\text{H}_{39}\text{N}_6\text{O}_9$ EuNa) 851.1886; found 851.1886.

CD-Ant-La (59)

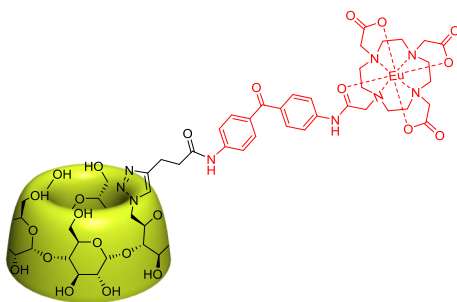


A round bottom flask was charged with CDN_3 **9** (56 mg, 0.06 mmol, 1 eq), **57** (50 mg, 0.06 mmol, 1.10 eq), copper sulfate (8 mg, 0.03 mmol, 0.6 eq), water (1.5 mL), DMF (1.5 mL). PMDETA (7 μL , 0.03 mmol, 0.60 eq) and sodium ascorbate (44 mg, 0.22 mmol, 3.60 eq) were added. The reaction mixture was stirred under nitrogen at room temperature for 15 hours. The completion of the reaction was checked by TLC (ACN/ H_2O). The solvents were evaporated. The residue was purified by flash chromatography with acetonitrile/ H_2O to get the product as a light-yellow solid (66 mg, 65 %).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7.77 (s, 1H), 7.60 (m, 8H), 5.15 – 4.79 (m, 7H), 4.55 (s, 1H), 4.08 (s, 2H), 4.06 – 3.72 (m, 13H), 3.67 – 3.44 (m, 20H), 3.37 – 2.43 (m, 6H).

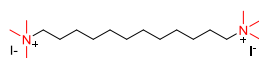
^{13}C NMR (101 MHz, D_2O) δ 197.31, 179.36, 179.21, 174.64, 173.56, 146.24, 142.13, 140.02, 134.03, 132.35, 131.82, 131.53, 125.29, 120.72, 119.75, 101.53, 101.49, 101.45, 101.39, 101.06, 82.79, 81.30, 81.21, 80.93, 73.34, 73.08, 72.85, 72.26, 72.09, 72.04, 71.73, 71.64, 71.50, 70.46, 60.87, 60.70, 60.50, 59.56, 53.63, 50.96, 49.55, 35.86, 20.75.

HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+$ $[\text{C}_{70}\text{H}_{98}\text{N}_9\text{O}_{38}\text{LaNa}]^+$ 1834.4968; found 1834.5153

CD-Ant-Eu (60)

A round bottom flask was charged with CDN_3 **9** (56 mg, 0.06 mmol, 1 eq), Antenna-Eu **58** (52 mg, 0.06 mmol, 1.10 eq), copper sulfate (8 mg, 0.03 mmol, 0.6 eq), water (1.5 mL), DMF (1.5 mL). PMDETA (7 μL , 0.03 mmol, 0.60 eq) and sodium ascorbate (44 mg, 0.22 mmol, 3.60 eq) were added. The reaction mixture was stirred under nitrogen at room temperature for 15 hours. The completion of the reaction was checked by TLC (ACN/ H_2O). The solvents were evaporated. The residue was purified on flash chromatography to get the product as a light-yellow solid (66 mg, 65%).

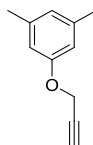
HRMS (ESI): m/z calc $[\text{M}+\text{Na}]^+ [\text{C}_{70}\text{H}_{98}\text{N}_9\text{O}_{38} \text{EuNa}]^+ 1848.5153$; found 1848.5145

Rotaxanes and pseudorotaxanes**Permethylated diaminododecane (63)**

In a round bottom flask was added 1,12-diaminododecane (500 mg, 2.36 mmol, 1 eq), distilled acetonitrile (15 mL) and K_2CO_3 (1.72 g, 12.48 mmol, 5 eq). Iodomethane (1.6 mL, 24.96 mmol, 10 eq) was added dropwise. The reaction was stirred at room temperature for 18 hours. The product was purified by flash chromatography ($\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$) to obtain a pale orange solid (1.30, 99 %)

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 3.71 – 3.55 (m, 4H), 3.43 (s, 18H), 2.11 (bs, 4H), 1.71 (bs, 8H), 1.67 (bs, 8H).

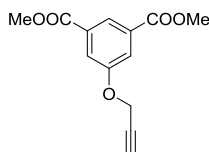
Compound (64)^[126]



To a solution of 3,5-dimethylphenol (1 g, 8.2 mmol, 1 eq) and K_2CO_3 (1.7 g, 12.3 mmol, 1.50 eq) in 10 mL of DMF was added a solution of propargylbromide (80% in toluene) (1.2 mL, 9 mmol, 1.10 eq). The reaction mixture was stirred at room temperature for 15 hours under inert atmosphere. 100 mL of dichloromethane were added to the mixture. The organic phase was washed with NaOH (1 M) and water, dried on MgSO_4 . Solvent was evaporated to obtain the product as a pale yellow oil (1.18 g, 90%).

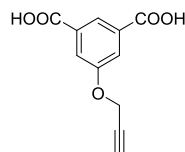
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 6.65 (s, 1H), 6.60 (s, 2H), 4.66 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 2.50 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H), 2.30 (s, 6H).

Dimethyl 5-(propargyloxy)isophthalate



In a round bottom flask was added dimethyl-5-hydroxyisophthalate (300 mg, 1.43 mmol, 1 eq), 3 mL of anhydrous DMF and K_2CO_3 (395 mg, 2.86 mmol, 2 eq). Propargylbromide (80% in toluene) (293 μL , 2.14 mmol, 1.5 eq) was added drop-wise. The reaction was stirred at room temperature for 15 hours under nitrogen. It was poured in 10 mL of water. A white precipitate was formed. It was filtrated and washed with water to obtain the product as a white solid (290 mg, 82%)

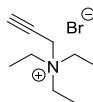
^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.33 (t, $J = 1.4$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 1.4$ Hz, 2H), 4.78 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 3.94 (s, 6H), 2.55 (t, $J = 2.4$ Hz, 1H).

Diacid (65)^[127]

In a round bottom flask was added dimethyl 5-(propargyloxy)isophthalate (290 mg, 1.16 mmol, 1 eq), 2 mL of THF, 2 mL of water, 2 mL of MeOH and NaOH (285 mg, 5.82 mmol, 5 eq). The reaction was stirred at 70°C for 3 hours. THF and MeOH were evaporated from the mixture. 10 mL of HCl 1M was added. The white precipitate was filtrated and washed with water to obtain the product (240 mg, 94%)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 13.33 (s, 2H), 8.11 (t, J = 1.5 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 1.5 Hz, 2H), 4.95 (d, J = 2.4 Hz, 2H), 3.63 (t, J = 2.3 Hz, 1H).

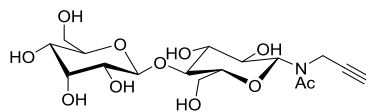
¹³C NMR (101 MHz, DMSO) δ 166.29, 157.32, 132.64, 122.91, 119.62, 78.94, 78.67, 55.98.

Compound (66)^[112]

To a round bottom flask was added Et₃N (2.74 mL, 19.8 mmol, 1 eq) in 50 mL of chloroform. The mixture was cooled to 0°C and propargylbromide (80% in toluene) (2.42 mL, 21.7 mmol, 1.10 eq) was added drop-wise. It was stirred at room temperature for 15 hours. The reaction mixture was poured in 100 mL of Et₂O. The white precipitate was filtrated and washed with Et₂O to obtain the product as a white solid (4.36 g, 99 %)

¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 4.38 (d, J = 2.6 Hz, 2H), 4.04 (t, J = 2.5 Hz, 1H), 3.34 (q, J = 7.3 Hz, 6H), 1.22 (t, J = 7.2 Hz, 9H).

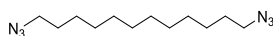
Compound (67)^[128]



To a round flask was added lactose (500 mg, 1.46 mmol, 1 eq) and propargylamine (1.8 mL, 27.91 mmol, 19 eq). The mixture was stirred for 2 days à room temperature. Propargylamine was evaporated and 10 mL of MeOH and anhydride acetic (1.6 mL, 16.65 mmol, 11.40 eq) were added. The reaction mixture was stirred at room temperature for 15 hours. MeOH was evaporated and anhydride acetic was coevaporated with toluene. The product was purified by flash chromatography (CH₃CN/H₂O) to yield a pale brown solid (450 mg, 73 %)

¹H NMR (353 K, 400 MHz, D₂O) δ 5.07 (d, *J* = 8, 1H), 4.53 (m, 2H), 4.24-4.43 (m, 8H), 4.17 (dd, *J* = 10 and 8, 1H), 2.86 (s, 3H)

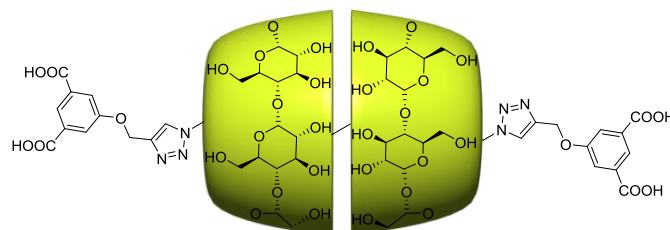
Diazidodécane (68)^[129]



Under argon, a solution of 1,12-dibromododecane (0.5 g, 1.5 mmol, 1 eq) and sodium azide (0.4 g, 6.2 mmol, 4.1 eq) in dry dimethylformamide (5 ml) was stirred at reflux (80 °C) for 24 h. Then, the solvent was removed under reduced pressure and water (50 ml) was added. The product was extracted with dichloromethane (150 ml). The organic layer was dried over MgSO₄ and filtered. Evaporation of the filtrate yielded to a pale brown oil (380 mg, 99%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.26 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.65 – 1.55 (m, 4H), 1.42 – 1.25 (m, 16H).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 51.65, 29.63, 29.60, 29.29, 28.99, 26.87.

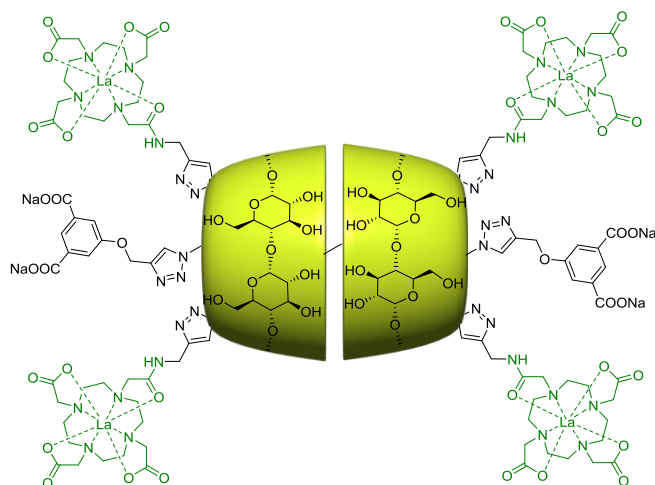
[3]rotaxane of CD (69)

A mixture of diazidododecane **68** (30 mg, 0.12 mmol, 1 eq), CD (231 mg, 0.24 mmol, 2 eq), K_2CO_3 (98 mg, 0.71 mmol, 6 eq), **65** (54 mg, 0.26 mmol, 2.2 eq) in water (2.5 mL) was stirred at room temperature for 15 min. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (18 mg, 0.07 mmol, 0.60 eq), PMDETA (25 μ L, 0.12 mmol, 1 eq) and ascorbate de sodium (28 mg, 0.14 mmol, 1.20 eq) were added. The reaction mixture was stirred for 15 hours at room temperature. HCl 1M was poured in the reaction. The precipitate was filtrated and washed with water and acetone. MeOH was added to the solid and water was added. The precipitate was filtrated again and washed with water and acetone. The last procedure was repeated 2 times.

1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 13.33 (s, 4H), 8.11 (s, 2H), 8.09 (s, 2H), 7.72 (s, 4H), 5.78 (s, 12H), 5.55 (s, 12H), 5.18 (d, J = 4.6 Hz, 4H), 4.77 (s, 12H), 4.45 (s, 12H), 4.25 (s, 2H), 3.76 (s, 6H), 3.62 (t, J = 9.5 Hz, 24H), 3.49 (d, J = 10.8 Hz, 12H), 3.44 (m, 12H), 3.24 (t, J = 7.7 Hz, 12H), 1.85 (d, J = 10.2 Hz, 4H), 1.49 – 1.32 (m, 16H).

^{13}C NMR (151 MHz, DMSO) δ 206.96, 166.83, 158.81, 142.19, 133.11, 124.17, 123.05, 119.54, 102.61, 82.07, 73.85, 72.67, 72.46, 62.26, 59.86, 50.37, 49.07, 31.64, 31.17, 31.14, 30.80, 27.92.

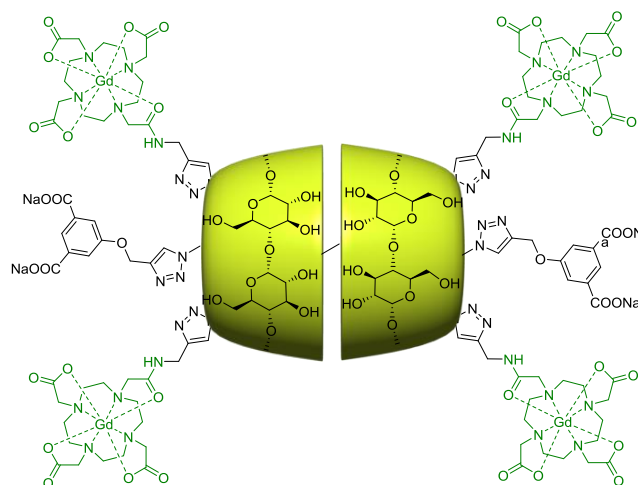
[3]rotaxane of CDLa₂ (**70**)



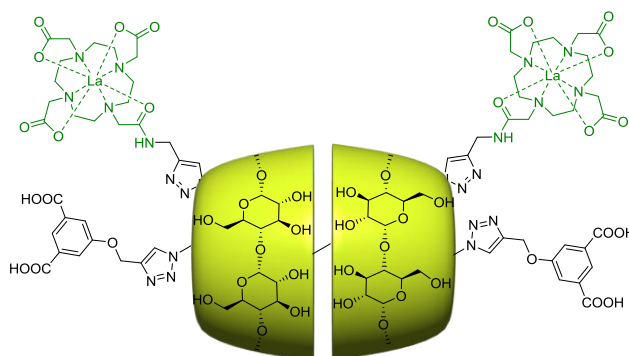
A solution of diazidododecane **68** (5.8 mg, 0.023 mmol, 1 eq), **20** (100 mg, 0.046 mmol, 2eq), **65** (10.4 mg, 0.050 mmol, 2.1 eq), copper(II) sulfate pentahydrate (3.4 mg, 0.014 mmol), sodium bicarbonate (7.7 mg, 0.092 mmol, 60%) and PMDETA (5 μ l, 0.023 mmol, 60%) in distilled water (1.0 ml) was stirred under argon until the solution became cloudy (15 minutes). Then, sodium ascorbate (5.5 mg, 0.028 mmol, 1.2 eq) was added. The solution was stirred at room temperature under argon for 24 hours. Water was removed. The solid was purified by size-exclusion chromatography to yield the rotaxane (43 mg, 37%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.29 (s, 4H), 7.92 (s, 4H), 7.56 (s, 4H, arom. cap), 5.38 (s, 4H), 5.19 (s, 4H), 5.08 (s, 9H), 4.70 – 4.33 (m, 21H), 4.07 – 3.44 (m, 67H), 3.23 – 3.05 (s, 2H), 2.90 – 2.82 (m, 12H), 2.76 – 2.67 (m, 13H), 2.53 (m, 56H), 2.30 (m, 12H), 2.08 – 1.92 (s broad, 4H), 1.48 (s, 16H).

MS (ESI): m/z calc [M-5H+Li]⁴⁻ (C₁₈₂H₂₆₃La₄N₃₈O₉₄Li) 1262.3, [M-4H+Li]³⁻ (C₁₈₂H₂₆₄La₄N₃₈O₉₄Li) 1683.4, [M-3H+Li]²⁻ (C₁₈₂H₂₆₅La₄N₃₈O₉₄Li) 2525.7; found 1263.1 (82%), 1684.0 (100%), 2525.7 (6%).

[3]rotaxane of CDGd₂ (71)

A solution of diazidododecane **68** (5.8 mg, 0.023 mmol, 1 eq), **21** (101 mg, 0.046 mmol, 2 eq), **65** (10.0 mg, 0.049 mmol, 2.2 eq), copper(II) sulfate pentahydrate (3.4 mg, 0.014 mmol, 60%), sodium bicarbonate (7.8 mg, 0.093 mmol, 4 eq) and PMDETA (5 μ l, 0.023 mmol, 60%) in distilled water (1.0 ml) was stirred under argon until the solution became cloudy (15 minutes). Then, sodium ascorbate (5.6 mg, 0.028 mmol, 1.2 eq) was added. The solution was stirred at room temperature under argon for 24 hours. Water was removed. The solid was purified by size-exclusion chromatography (61 mg, 52%).

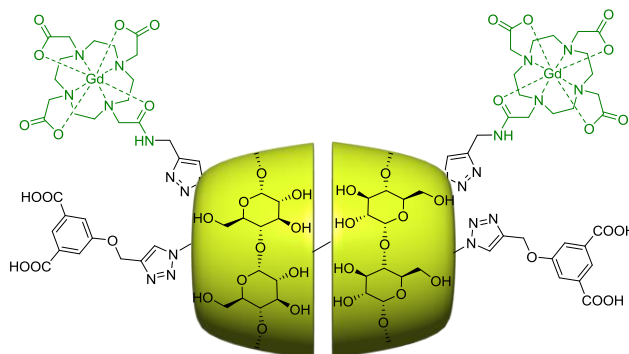
[3]rotaxane of CDLa (72)

A solution of diazidododecane **68** (10 mg, 0.040 mmol, 1 eq), **18** (125 mg, 0.079 mmol, 2 eq), **65** (18 mg, 0.087 mmol, 2.2 eq), copper(II) sulfate pentahydrate (6 mg, 0.024 mmol, 60%), sodium bicarbonate (13 mg, 0.158 mmol, 4 eq) and PMDETA (8 μ l, 0.040 mmol, 1 eq) in distilled water (1.5 ml) was stirred under argon until the solution became cloudy (15 minutes). Then, sodium ascorbate (10 mg, 0.048 mmol, 1.2 eq) was added. The solution was stirred at room temperature under argon for 24 hours. Water was removed. The solid was dissolved in distilled water (0.5 ml) and methanol (2 ml) was added to yield a precipitate. The solution was filtered on membrane filter. The precipitation was repeated twice over to yield a white solid (50 mg, 33%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8.28 (s, 2H), 7.98 (s, 2H), 7.90 (s, 2H), 7.66 (s, 4H), 5.41 (s, 4H), 5.19 (s, 2H), 5.16 – 5.00 (m, 12H), 4.60 – 4.29 (m, 10H), 4.01 – 3.46 (m, 66H), 3.33 – 2.20 (m, 50H), 2.10 – 1.80 (s broad, 6H, axis), 1.65 – 1.30 (s broad, 16H).

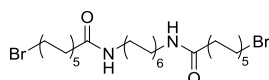
^{13}C NMR (151 MHz, D_2O) δ 179.61, 179.19, 175.27, 143.57, 143.08, 126.14, 124.78, 117.99, 102.63, 102.53, 102.48, 102.44, 102.40, 102.19, 81.02, 80.94, 80.89, 80.81, 80.72, 74.05, 73.92, 73.87, 73.40, 72.69, 72.26, 72.21, 72.18, 71.91, 71.83, 71.64, 60.95, 60.34, 59.57, 54.52, 50.92, 50.76, 48.86, 42.92, 34.93, 31.50, 31.30, 27.95.

MS (ESI): m/z calc $[\text{M}-5\text{H}+\text{Li}]^{4+}$ ($\text{C}_{144}\text{H}_{209}\text{La}_2\text{N}_{22}\text{O}_{82}\text{Li}$) 961.5, $[\text{M}-4\text{H}+\text{Li}]^{3-}$ ($\text{C}_{144}\text{H}_{210}\text{La}_2\text{N}_{22}\text{O}_{82}\text{Li}$) 1281.7, $[\text{M}-4\text{H}+\text{Li}+\text{Na}]^{2-}$ ($\text{C}_{144}\text{H}_{210}\text{La}_2\text{N}_{22}\text{O}_{82}\text{NaLi}$) 1934.1; found 961.5 (67%), 1282.0 (100%), 1933.8 (22%).

[3]rotaxane of CDGd (73)

A solution of diazidododecane **68** (10 mg, 0.040 mmol, 1 eq), **19** (126 mg, 0.079 mmol, 2 eq), **65** (18 mg, 0.087 mmol, 2.2 eq), copper(II) sulfate pentahydrate (6 mg, 0.024 mmol, 0.60 eq), sodium bicarbonate (13 mg, 0.158 mmol, 4.1 eq) and PMDETA (8 μ l, 0.040 mmol, 1 eq) in distilled water (1.5 ml) was stirred under argon until the solution became cloudy (15 minutes). Then, sodium ascorbate (10 mg, 0.048 mmol, 1.2 eq) was added. The solution was stirred at room temperature under argon for 24 hours. Water was removed. The solid was dissolved in distilled water (0.5 ml) and methanol (2 ml) was added to yield a precipitate. The solution was filtered on a membrane filter. The precipitation was repeated twice over to yield a solid (33 mg, 21%).

MS (ESI): m/z calc $[M-5H+Li]^{4-}$ ($C_{144}H_{209}Gd_2N_{22}O_{82}Li$) 970.3, $[M-4H+Li]^{3-}$ ($C_{144}H_{210}Gd_2N_{22}O_{82}Li$) 1294.3, $[M-3H+Li]^{2-}$ ($C_{144}H_{211}Gd_2N_{22}O_{82}Li$) 1941.8; found 971.0 (52%), 1294.1 (100%), 1941.6 (16%).

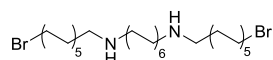
Oligorotaxane synthesis**Compound (74)**

To a solution of 1,12-diaminododecane (250 mg, 1.25 mmol, 1 eq) and 15 mL of distilled acetonitrile cooled at 0°C were added bromoundecanoic acid (660 mg, 2.50 mmol, 2.00 eq), EDCI (500 mg, 2.62 mmol, 2.10 eq) and DMAP (8 mg, 0.03 mmol, 0.05 eq). The reaction

mixture was stirred at room temperature for 15 hours. Acetonitrile was evaporated. 10 mL of CH₂Cl₂ was added and HCl 1M. The precipitate was washed with Na₂CO₃ 5%, water and Et₂O. The product was obtained as a white precipitate (390 mg, 45%)

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 315 K) δ 5.38 (s, *J* = 9.3 Hz, 2H), 3.40 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H), 3.24 (q, *J* = 6.7 Hz, 4H), 2.14 (t, *J* = 7.6 Hz, 4H), 1.85 (p, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.62 (p, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.53 (m, 4H), 1.49 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.41 (q, *J* = 7.0 Hz, 4H), 1.28 (m, 32H).

Compound (75)

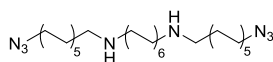


To a solution of **74** (600 mg, 0.87 mmol, 1 eq) in 20 mL of distilled THF was added 15 mL of a solution of BH₃·SMe₂ at 2M in THF (15 mL, 30 mmol, 35 eq). The reaction was stirred at 55°C for 15 hours. The mixture was cooled to room temperature, acetic acid was added, water and NaOH 1M. The aqueous phase was extracted with chloroform, dried over MgSO₄ and evaporated. The product was purified by flash chromatography on alumina (MeOH/dichloromethane) to obtain a white solid (250mg, 43%).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 5.00 (t, *J* = 6.7 Hz, 4H), 4.48 – 4.35 (m, 8H), 3.47 – 3.32 (m, 4H), 3.19 (m, 8H), 2.90 (m, 44H).

HRMS (ESI): *m/z* calc [M+H]⁺ [C₃₄H₇₁Br₂N₂]⁺ 665.3979; found 665.4006

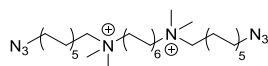
Compound (76)



In a round bottom flask was added **75** (100 mg, 0.24 mmol, 1 eq), sodium azide (54 mg, 0.83 mmol, 3.5 eq) and 15 mL of anhydrous DMF. The mixture was stirred for 15 hours at 80°C. Water was added to the mixture and it was extracted with chloroform (43 mg, 30%).

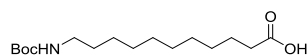
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 4.84 (t, *J* = 6.8 Hz, 4H), 4.54 – 4.41 (m, 8H), 3.26 – 3.17 (m, 8H), 3.17 – 3.06 (m, 4H), 3.01 – 2.80 (m, 44H).

HRMS (ESI): *m/z* calc [M+H]⁺ [C₃₄H₇₁N₈]⁺ 591.5796; found 591.5820

Compound (77)

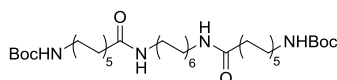
To a solution of **76** (100 mg, 0.17 mmol, 1 eq) in distilled acetonitrile (10 mL) was added K_2CO_3 (0.40 g, 1.69 mmol, 10 eq) and iodomethane (0.21 mL, 3.39 mmol, 20 eq). The reaction mixture was stirred for 18 hours at room temperature. The solvent was evaporated and the product was purified by flash chromatography with CH_3CN/H_2O to afford **77** as a pale brown solid (22 mg, 20%).

HRMS (ESI): m/z calc $[M]^{2+}$ $[C_{38}H_{81}N_8]^{2+}$ 324.3247; found 324.3274

11-(tert-butoxycarbonylamino)undecanoic acid ^[130]

To a solution of 11-aminoundecanoic acid (5 g, 25 mmol, 1 eq), NaOH (2.18 g, 52 mmol, 2.10 eq) in THF (130 mL) and water (130 mL) was added di-tertbutyl dicarbonate (8.14 g, 37 mmol, 1.50 eq). The reaction mixture was stirred for 15 hours at room temperature. THF was evaporated. The aqueous phase was acidified with HCl 1 M and extracted 3 times with chloroform. The organic phase was dried over $MgSO_4$ and evaporated to obtain the product as a white precipitate (6.5 g, 86%).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.52 (s, 2H), 3.10 (m, 2H), 2.34 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.62 (p, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.37 – 1.22 (m, 12H).

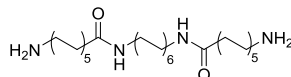
Compound (78)

To a round bottom flask was added diaminododecane (500 mg, 2.50 mmol, 1 eq), 11-(tert-butoxycarbonylamino)undecanoic acid (1.50 g, 5 mmol, 2 eq) and 60 mL of distilled acetonitrile. EDCI (1 g, 5.24 mmol, 2.10 eq) and DMAP were added. The reaction mixture

was stirred at 45°C for 15 hours. The precipitate was filtrated and washed with acetonitrile to obtain the product (1.2 g, 62%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.43 (s, 2H), 4.50 (s, 2H), 3.23 (q, *J* = 6.9 Hz, 4H), 3.10 (m, 4H), 2.22 – 2.09 (m, 4H), 1.61 (s, 1H), 1.44 (s, 18H), 1.35 – 1.20 (m, 34H).

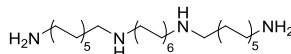
Compound (79)



To a solution of **78** (1.50 g, mmol, eq) in chloroform (50 mL) was added TFA (6 mL). It was stirred at room temperature for 18 hours. Diethylether was poured in the reaction mixture. The formed precipitate was filtered and washed with diethylether to obtain the product (1.26 g, 85%)

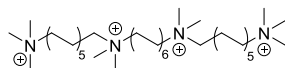
¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 4.71 (t, *J* = 7.0 Hz, 4H), 4.54 – 4.32 (m, 4H), 3.72 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H), 3.18 (m, 8H), 3.05 (t, *J* = 6.9 Hz, 4H), 2.97 – 2.73 (m, 40H).

Compound (80)



To a solution of **74** (600 mg, 0.87 mmol, 1 eq) in 20 mL of distilled THF was added 15 mL of a solution of BH₃·SMe₂ at 2M in THF (15 mL, 30 mmol, 35 eq). The reaction was stirred at 55°C for 15 hours. The mixture was cooled to room temperature, acetic acid was added, water and NaOH 1M. The aqueous phase was extracted with chloroform, dried over MgSO₄ and evaporated. The product was purified by flash chromatography on alumina (MeOH/dichlormethane) to obtain a white solid (220 mg, 30%).

HRMS (ESI): *m/z* calc [M-H]⁺ [C₃₄H₇₅N₄]⁺ 539.5986; found 539.5971

Compound (81)

To a solution of **80** (100 mg, 0.19 mmol, 1 eq) in distilled acetonitrile (10 mL) was added Na₂CO₃ (0.40 g, 3.72 mmol, 20 eq) and iodomethane (0.6 mL, 9.29 mmol, 50 eq). The reaction mixture was stirred for 18 hours at room temperature. The mixture was filtered and washed with MeOH. The solvent of the filtrate was evaporated to obtain the product as a brown solid (45 mg, 23%).

Polyrotaxane synthesis**PEG-OTs₂**

To a solution of PEG (15g, 3.75 mmol, 1 eq) in distilled dichloromethane (100 mL) was added tosyl chloride (2.63 g, 11.25 mmol, 3 eq) and triethylamine (6.1 mL, 11.25 mmol, 3 eq). The reaction mixture was stirred at room temperature for 15 hours. The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH; 90/10) to obtain a solid (9 g, 60%)

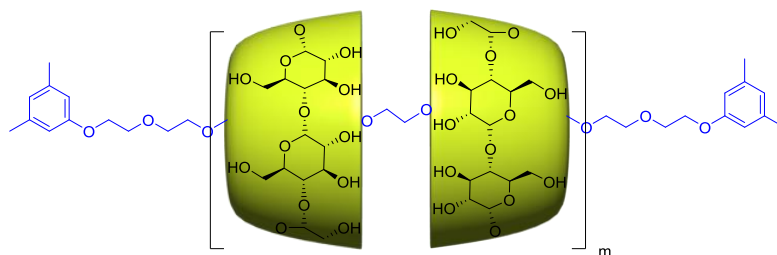
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H), 7.33 (d, *J* = 8.1 Hz, 4H), 4.15 (m, 4H), 3.63 (m, 362H), 2.44 (s, 6H).

PEG-N₃

To a solution of PEG-Ts₂ (2 g, 0.46 mmol, 1 eq) in anhydrous DMF (20 mL) was added sodium azide (120 mg, 1.86 mmol, 4 eq). The product was purified by flash chromatography (CH₂Cl₂/MeOH) to provide a solid (1.6 g, 80%).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.62 (s, 356H), 3.36 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H).

PR-PEG-CD1

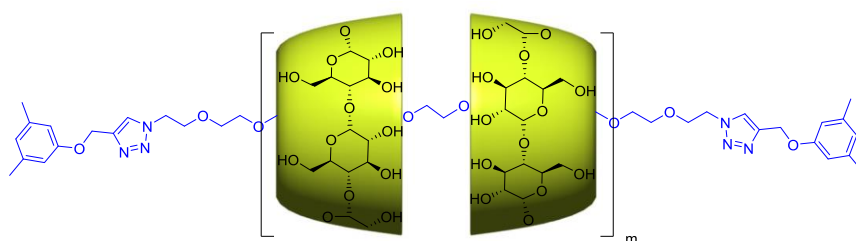


A solution of CD (800 mg, 0.8 mmol, 32 eq) and PEG-Ts₂ (117 mg, 0.03 mmol, 1 eq) in 8 mL of water was sonicated for 1 hour and stirred at room temperature for 15 hours. The precipitate was freeze-dried.

In a round bottom flask was added 3,5-dimethylphenol (860 mg, 7 mmol, 151 eq), sodium hydride 60% (250 mg, 10.4 mmol, 223 eq) in 16 mL of anhydrous DMF. The mixture was stirred for 30 min at room temperature. Pseudorotaxane was then added and stirred for 15 hours. DMF was evaporated. DMSO was added to the crude product; methanol was added in order to have a precipitate. It was filtered. This procedure was repeated 3 times to get a white precipitate (230 mg, 25%).

¹H NMR (600 MHz, DMSO) δ 6.60 – 6.43 (m, 6H), 5.64 (broad s, 80H), 5.58 – 5.40 (m, 80H), 4.97 – 4.62 (m, 80H), 4.53 – 4.26 (m, 80H), 3.93 – 3.61 (m, 208H), 3.51 (s, 597H), 3.32 (s, 941H), 2.22 (s, 6H).

PR-PEG-CD2



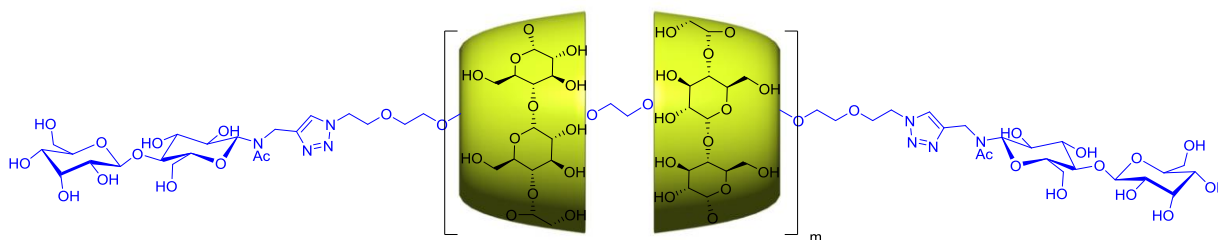
A solution of CD (1 g, 1 mmol, 41 eq) and PEG-N₃ (100 mg, 0.03 mmol, 1 eq) in 10 mL of water was put in an ultrasonic bath for 1 hour and stirred at room temperature for 15 hours. The precipitate was freeze-dried.

In a Schlenk flask, was added **64** (83 mg, 0.52 mmol, 21 eq), CuI (65 mg, 0.34, 14 eq), PMDETA (71 μ L, 0.34 mmol, 14 eq) in 4 mL of anhydrous DMF. Pseudorotaxane was then

added to the mixture and stirred for 15 hours. DMF was evaporated. DMSO was added to the crude product; water was added in order to have a precipitate. It was filtered. This procedure was repeated 2 times to obtain a white precipitate (330 mg, 30%).

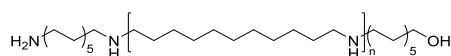
^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 7.19 (s, 2H), 6.60 (d, J = 11.2 Hz, 5H), 5.67 (s, 102H), 5.60 – 5.43 (m, 78H), 4.88 – 4.71 (m, 104H), 4.43 (s, 113H), 3.75 (d, J = 18.5 Hz, 166H), 3.65 (s, 30H), 3.61 – 3.40 (m, 61H), 3.32 (s, 1041H), 2.23 (d, J = 6.1 Hz, 17H).

PR-PEG-CD3



A solution of CD (1 g, 1 mmol, 41 eq) and PEG- N_3 (100 mg, 0.03 mmol, 1 eq) in 20 mL of water was sonicated for 1 hour and stirred at room temperature for 15 hours. Compound **67** (83 mg, 0.52 mmol, 21 eq), copper sulfate pentahydrate (65 mg, 0.34, 14 eq), PMDETA (71 μL , 0.34 mmol, 14 eq) was added. Water was evaporated. DMSO was added to the crude product; water was added in order to have a precipitate. It was filtered. This procedure was repeated 2 times to obtain a white precipitate (110 mg, 10%).

Poly(iminoundecamethylene)

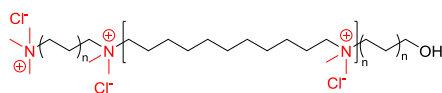


Reprecipitated polyamide11 (2 g, 10.97 mmol of monomers, 1 eq), 80 mL of distilled THF, and 25 mL of $\text{BH}_3 \cdot \text{Me}_2\text{S}$ at 2 M in THF (45 mmol, 4 eq) were stirred for 24 hours at reflux. After allowing the reaction mixture to cool to room temperature, 20 mL of acetic acid was added to the mixture. It was stirred again for 15 hours at reflux. The reaction mixture was cooled to room temperature and 600 mL of NaOH at 10% was poured. A gel was formed. It was filtered and dried and then extracted with CHCl_3 in a Soxhlet apparatus to get the polyamine as a pale yellow solid (1.2 g).

Reprecipitation of polyamide. 10 g of polyamide11 were added to 100 mL of formic acid. The mixture was stirred at 80°C until the polyamide was dissolved. The mixture was cooled and poured slowly in 500 mL of methanol. A precipitate is formed. 500mL of water were added and the precipitate was filtered and washed with hot water. In order to remove water in the polymer toluene was added, and water was coevaporated until the distillate was clear.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.57 (t, *J* = 7.2 Hz, 4H), 1.47 (broad s, 4H), 1.27 (broad s, 14H)

Poly((N,N-dimethylammonio)undecamethylene chloride)

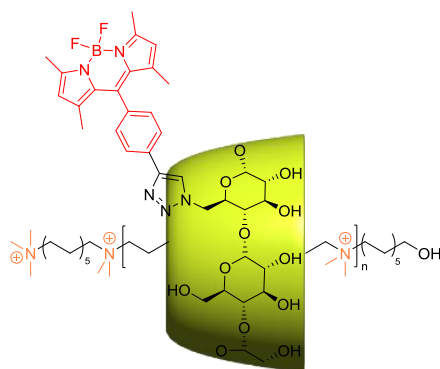


A solution **Poly(iminoundecamethylene)** (300 mg), sodium carbonate (470 mg, 4.4 mmol) and iodomethane (0.27 ml, 4.4 mmol) in methanol (20 ml) was prepared in a round-bottom flask. The mixture was stirred overnight under reflux (80°C). The solution was then brought to room temperature and a solution of ammonium hydroxide (30%, 4.5 ml) was added. The mixture was stirred for 3 hours at room temperature. Then solvents were removed under reduced pressure (80%). The polymer was redissolved by addition of methanol (25 ml), and hydrochloric acid (1M, 50 ml) was added. The solution was stirred overnight. Solvents were removed to yield a brown solid (380 mg, 100%).

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ 3.45 – 3.37 (m, 4H), 3.16 (s, 6H), 1.83 (t, *J* = 8.4 Hz, 4H), 1.55 – 1.32 (m, 14H).

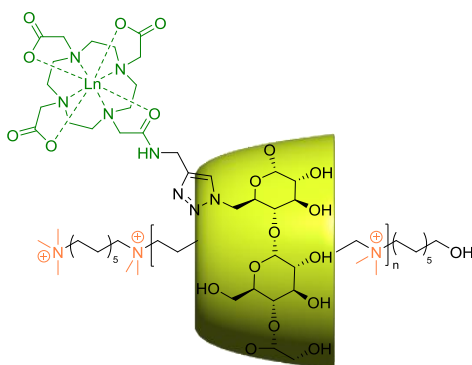
General procedure for polyrotaxane synthesis based on polyammonium.

Polyammonium and fonctionnalized CD were mixed in water (or a mix of water and MeOH). Proportion of total CD is one equivalent for one monomer unit. The reaction mixture was stirred to a suitable temperature for several days. PRs was purified by ultrafiltration.

PR-CD-Bod1

A solution of polyammonium (2.8 mg) and **28** (13.5 mg, 0.10 mmol) in H₂O/MeOH (9/1) (1 mL) was stirred at 50°C for 4 days. The product was washed and purified by ultrafiltration to get the product as clear red solid. (9 mg, 55%).

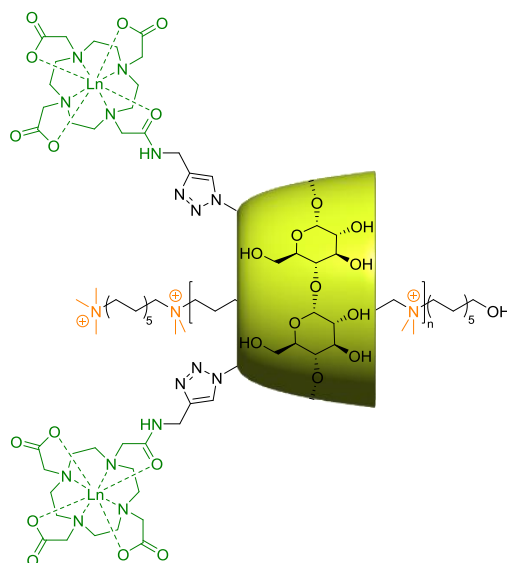
¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ 8.48 (broad s, triazole), 8.04 (s, BODIPY), 7.41 (s, BODIPY), 6.16 (s, BODIPY), 4.14 – 3.74 (m, CD), 3.59 (m, axis), 3.33 – 3.20 (m, axis), 3.04 (s, axis), 2.49 (s, axis), 1.87 (d, $J = 22.6$ Hz, axis), 1.79 – 1.69 (m, axis), 1.47 (s, axis), 1.33 (m, axis).

PR-CDLn

A solution of polyammonium (5.8 mg) and **18** (31 mg, 0.02 mmol) in H₂O (2 ml) was stirred at 80°C for 5 days. The product was washed by distilled water and purified by ultrafiltration to yield a solid (12 mg, 23%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.08 (s, triaz. CD), 5.32 – 4.97 (m, H anomeric), 4.63 (s, CD), 4.20 – 2.97 (m, CD and axis), 2.75 – 2.30 (s broad, axis), 2.00 – 1.64 (m, axis), 1.65 – 1.06 (m, axis).

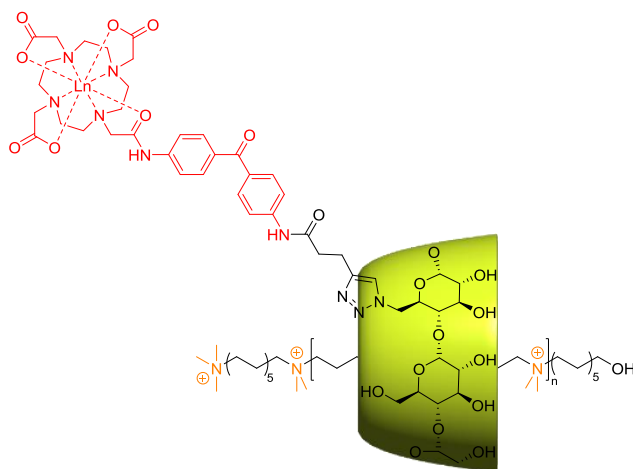
PR-CDLn₂



A solution of polyammonium (5 mg) and **20** (47 mg, 0.02 mmol) in D₂O (2 ml) was stirred at 80°C for a week. Methanol (0.2 ml) was added. The product was washed by a solution of methanol and distilled water (1:9) and purified by ultrafiltration to yield a solid (12 mg, 23%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.08 (s, triaz. CD), 5.32 – 4.97 (m, H anomeric), 4.63 (s, CD), 4.20 – 2.97 (m, CD and axis), 2.75 – 2.30 (s broad, axis), 2.00 – 1.64 (m, axis), 1.65 – 1.06 (m, axis).

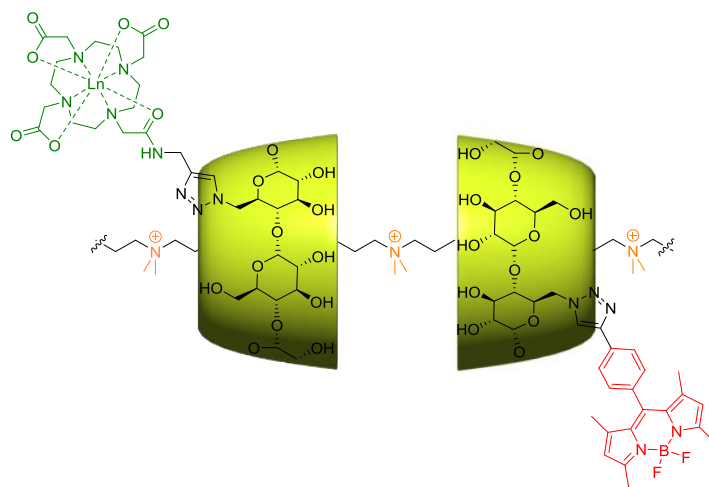
PR-CD-Ant-Ln



A solution of polyammonium (7.5 mg), CD-Ant-La (58 mg) in water was stirred at 80°C for 4 days. The product was purified by ultrafiltration with a mixture of water/MeOH (80/20) to obtain a white solid (20 mg, 30%).

¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 7.87 – 7.27 (m, H arom. and triaz.), 5.39 – 4.81 (m, H anomeric), 4.02 – 3.62 (m, H CD), 3.49 (m, H CD), 3.27 – 2.72 (m, H axis and cyclen), 2.59 (m, H cyclen), 1.58 (s, H axis), 1.44 – 0.94 (m, H axis).

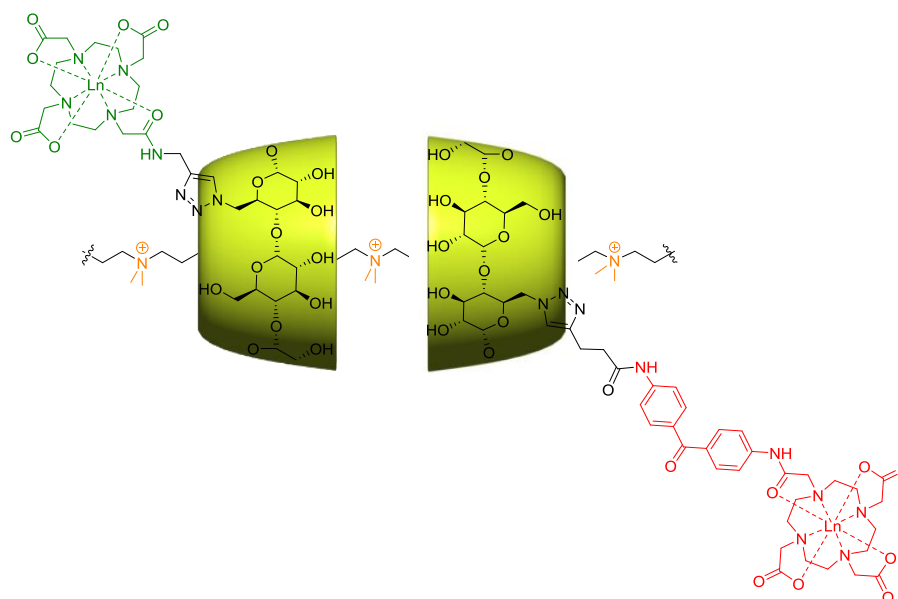
PR-CDLn-CD-Bod1



A solution of polyammonium (7.5 mg) and **18** (40 mg, 0.026 mmol) in H₂O (3 ml) was stirred at 80°C for 24 hours. Methanol (0.3 ml) and **28** (9 mg, 0.006 mmol) were added. The reaction mixture was stirred at 60°C for 3 days. The product was washed by a solution of methanol and distilled water (1:9) and purified by ultrafiltration to yield a solid (10 mg, 19%).

¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ 8.54 (s, Bod), 8.07 (m, Bod), 7.43 (s, Bod), 6.20 (s, Bod), 5.07 (m, CD), 3.94 (m, CD), 3.79 – 3.45 (m, CD), 3.43 – 3.22 (m, axis), 3.07 (s, axis), 2.68 – 2.43 (m, complex), 1.76 (m, axis), 1.50 (m, axis), 1.37 (m, axis).

PR-CDLn-CD-Ant-Ln



A solution of polyammonium (7.5 mg), CDLa **18** (40 mg), CD-Ant-La **59** (11 mg) in water was stirred at 80°C for 4 days. The product was purified by ultrafiltration with water and methanol (1/1) to obtain a solid (14 mg, 25%).

¹H NMR (600 MHz, D₂O) δ 8.05 (s, 1H, triaz. CDLa), 7.78 (b s, H arom. and triaz. CD-Ant-La), 5.25 – 4.98 (m, H anomeric), 4.14 – 3.80 (m, H CD), 3.76 – 3.51 (m, H CD), 3.28 (m, H axis), 3.18 – 2.98 (m, H axis), 2.86 (b s, H cyclen), 2.58 (broad s, H cyclen), 1.80 (m, H axis), 1.60 – 1.11 (m, H axis).

PR-CDN₃

A solution of 20 mg of polyammonium (20 mg) and CDN₃ **9** (86 mg) in water (4 mL) was stirred at 80°C for 27 days. The product was purified by ultrafiltration with water to provide a solid (80 mg, 77%) (71% CDN₃)

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.13 (s, H anomeric), 3.92 (m, H CD), 3.73 (m, H CD), 3.31 (m, H axis), 3.19 – 3.01 (m, H axis), 1.83 (d, H axis), 1.55 (s, H axis), 1.37 (m, H axis).

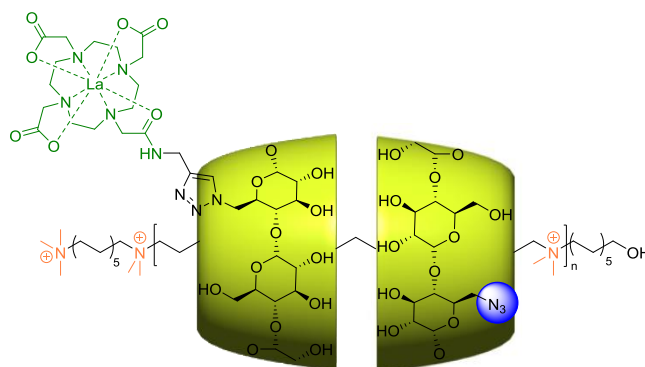
PR-CD(N₃)₂

A solution of 20 mg of polyammonium (20 mg) and CDN₃ **9** (88 mg) in water (4 mL) was stirred at 80°C for 27 days. The product was purified by ultrafiltration with water to provide a solid (75 mg, 69%). (60% CD(N₃)₂)

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 5.13 (s, H anomeric), 3.90 (m, H CD), 3.72 (m, H CD), 3.30 (m, axis), 3.08 (m, H axis), 1.88 (s, H axis), 1.77 (m, H axis), 1.54 (s, H axis), 1.36 (m, H axis).

PR-CDLa by post-functionalization

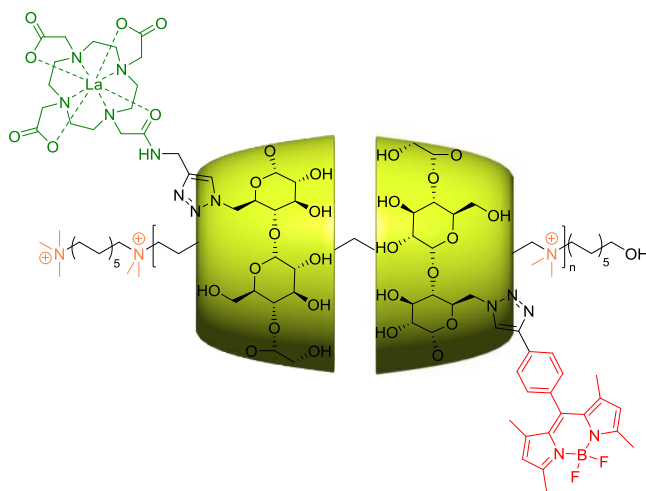
To a solution of **PR-CDN₃** (10 mg) in D₂O (1 mL) was added **15** (4.1 mg), CuSO₄ (5.1 mg), PMDETA (4.2 μL) and sodium ascorbate (8 mg). It was stirred at room temperature for 24 hours. The product was purified by ultrafiltration with water to obtain a solid (9 mg, 64%).

PR-CDLn-CDN₃

A solution of CDLa **18** (67 mg, 0.5 eq), CDN₃ **9** (42 mg, 0.5 eq) and 20 mg of polyammonium (20 mg, 1 eq of monomer) in 4 mL of H₂O was stirred at 80°C for 10 days. The product was purified by ultrafiltration to obtain a pale brown solid (43 mg, 33%) (30% of CDN₃ and 18% of CDLa).

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 8.07 (s, triaz. CD), 5.34 – 5.00 (m, H anomeric), 4.63 (s, CD), 4.17 – 3.54 (m, CD), 3.45 – 3.20 (m, axis), 3.22 – 2.92 (m, CD), 1.97 – 1.65 (m, axis), 1.65 – 1.05 (m, axis).

PR-CDLn-CD-Bod1 by post-functionalization



To a solution of **PR-CDLa-CDN₃** (20 mg) in DMSO (1 mL) and H₂O (0.5 mL) was added BODIPY **22** (3.4 mg), CuSO₄ (1.5 mg), PMDETA (1.2 μL) and sodium ascorbate (2.4 mg). It was stirred at room temperature for 18 hours. The product was purified by ultrafiltration with MeOH and water (1/1) to obtain a red solid (20 mg, 85%).

Abréviations

AC	Agent de Contraste
ARN	Acide ribonucléique
BLI	Bioluminescence Imaging
BODIPY	Bore-dipyrrrométhène
CD	Cyclodextrine
CI	Complexe d'Inclusion
CT	Computed tomography
CuAAC	Copper-catalyzed Azide-Alkyne cycloaddition
DCC	Dicyclohexylcarbodiimide
DCM	Dichlorométhane
DDQ	2,3-dichloro-5,6-dicyanobenzoquinone
DIBAL-H	Hydruure de diisobutylaluminium
DIPEA	Diisopropyléthylamine
DMAc	N,N-diméthylacétamide
DMAP	4-diméthylaminopyridine
DMF	N,N-Diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DOSY	Diffusion Ordered Spectroscopy
DOT	Diffuse Optical Tomography
DOTA	Acide 1,4,7,10-tétrazacyclododécane-1,4,7,10-tétraacétique
DTPA	Diethylene triamine pentaacetic acid
EDCI	1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide
FDA	Food and Drug Administration

GFP	Green Fluorescent Protein
HOPO	Hydropyridinone
IRM	Imagerie par Résonnance Magnétique
ISC	Conversion inter-système
MR	Magnetic resonance
NHS	N-hydroxysuccinimide
NIR	Near Infrared
NMRD	Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion
NOESY	Nuclear overhauser effect spectroscopy
OPT	Optical projection tomography
PAMAM	Polyamidoamine
PEG	Poly(ethylene glycol)
PET	Positron emission tomography
PMDETA	N,N,N',N'',N''-pentaméthyl-diéthylène-triamine
PPR	Polypseudorotaxane
PR	Polyrotaxane
QD	Quantum Dot
RMN	Résonnance Magnétique Nucléaire
RT	Température ambiante (room temperature)
SPECT	Single Photon Emission Tomography
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethyl-1-piperidinyloxy
TFA	Acide trifluoroacétique
THF	Tétrahydrofurane
TMSA	Triméthylsilylacétilène
TROESY	Transverse Rotating-frame Overhauser Enhancement Spectroscopy
TsCl	Chlorure de tosyle
TTF	Tétrathiafulvalène
UV	Ultra-violet

Bibliographie

- [1] P. J. Cassidy, G. K. Radda, *J. R. Soc. Interface* **2005**, 2, 133.
- [2] R. Weissleder, M. J. Pittet, *Nature* **2008**, 452, 580.
- [3] L. Frullano, T. Meade, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2007**, 12, 939.
- [4] M. Port, J.-M. Idée, C. Medina, C. Robic, M. Sabatou, C. Corot, *BioMetals* **2008**, 21, 469.
- [5] E. J. Werner, A. Datta, C. J. Jocher, K. N. Raymond, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 8568.
- [6] J. Costa, É. Tóth, L. Helm, A. E. Merbach, *Inorg. Chem.* **2005**, 44, 4747.
- [7] P. F. Sieving, A. D. Watson, S. M. Rocklage, *Bioconjugate Chem.* **1990**, 1, 65.
- [8] J. Rudovský, M. Botta, P. Hermann, K. I. Hardcastle, I. Lukeš, S. Aime, *Bioconjugate Chem.* **2006**, 17, 975.
- [9] S. G. Zech, H. B. Eldredge, M. P. Lowe, P. Caravan, *Inorg. Chem.* **2007**, 46, 3576.
- [10] J. D. E. Prasuhn, R. M. Yeh, A. Obenaus, M. Manchester, M. G. Finn, *Chem. Commun.* **2007**, 1269.
- [11] E. C. Wiener, F. P. Auteri, J. W. Chen, M. W. Brechbiel, O. A. Gansow, D. S. Schneider, R. L. Belford, R. B. Clarkson, P. C. Lauterbur, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 7774.
- [12] O. Rolland, C.-O. Turrin, A.-M. Caminade, J.-P. Majoral, *New J. Chem.* **2009**, 33, 1809.
- [13] J. Rao, A. Dragulescu-Andrasi, H. Yao, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2007**, 18, 17.
- [14] R. Weissleder, *Nat Biotech* **2001**, 19, 316.
- [15] L. D. Lavis, R. T. Raines, *ACS Chemical Biology* **2008**, 3, 142.
- [16] X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, S. Weiss, *Science* **2005**, 307, 538.
- [17] R. Y. Tsien, *Annu. Rev. Biochem.* **1998**, 67, 509.
- [18] L. Martí-Bonmatí, R. Sopena, P. Bartumeus, P. Sopena, *Contrast Media Mol. Imaging* **2010**, 5, 180.
- [19] M. M. Hüber, A. B. Staubli, K. Kustedjo, M. H. B. Gray, J. Shih, S. E. Fraser, R. E. Jacobs, T. J. Meade, *Bioconjugate Chem.* **1998**, 9, 242.
- [20] H. C. Manning, T. Goebel, R. C. Thompson, R. R. Price, H. Lee, D. J. Bornhop, *Bioconjugate Chem.* **2004**, 15, 1488.
- [21] A. Louie, *Chem. Rev.* **2010**, 110, 3146.
- [22] V. P. Torchilin, *Nat Rev Drug Discov* **2005**, 4, 145.
- [23] E. Vucic, H. M. H. F. Sanders, F. Arena, E. Terreno, S. Aime, K. Nicolay, E. Leupold, M. Dathe, N. A. J. M. Sommerdijk, Z. A. Fayad, W. J. M. Mulder, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 131, 406.
- [24] T. Jin, Y. Yoshioka, F. Fujii, Y. Komai, J. Seki, A. Seiyama, *Chem. Commun.* **2008**, 5764.
- [25] S. Wang, B. R. Jarrett, S. M. Kauzlarich, A. Y. Louie, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 3848.
- [26] I. T. Harrison, S. Harrison, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 5723.
- [27] Y. Akae, H. Okamura, Y. Koyama, T. Arai, T. Takata, *Org. Lett.* **2012**, 14, 2226.

- [28] I. T. Harrison, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 231.
- [29] S. Dasgupta, J. Wu, *Chem. Sci.* **2012**, 3, 425.
- [30] I. Yoon, D. Benítez, Y.-L. Zhao, O. Š. Miljanić, S.-Y. Kim, E. Tkatchouk, K. C. F. Leung, S. I. Khan, W. A. Goddard, J. F. Stoddart, *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 1115.
- [31] X. Huang, S. Huang, B. Zhai, Y. Zhang, Y. Xu, Q. Wang, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 6414.
- [32] A. Arduini, R. Ferdani, A. Pochini, A. Secchi, F. Ugozzoli, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 3453.
- [33] L.-Y. Wang, J.-L. Ko, C.-C. Lai, Y.-H. Liu, S.-M. Peng, S.-H. Chiu, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 8850.
- [34] K. D. Hanni, D. A. Leigh, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 1240.
- [35] I. Poleschak, J.-M. Kern, J.-P. Sauvage, *Chem. Commun.* **2004**, 474.
- [36] B. Lewandowski, G. De Bo, J. W. Ward, M. Papmeyer, S. Kuschel, M. J. Aldegunde, P. M. E. Gramlich, D. Heckmann, S. M. Goldup, D. M. D'Souza, A. E. Fernandes, D. A. Leigh, *Science* **2013**, 339, 189.
- [37] A. Villiers, *Hebd. Acad. Sci.* **1891**, 112, 536.
- [38] H. Ogino, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 1303.
- [39] C. A. Stanier, S. J. Alderman, T. D. W. Claridge, H. L. Anderson, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, 41, 1769.
- [40] S. Tsuda, Y. Aso, T. Kaneda, *Chem. Commun.* **2006**, 3072.
- [41] F. Huang, H. W. Gibson, *Prog. Polym. Sci.* **2005**, 30, 982.
- [42] W. Zhang, W. R. Dichtel, A. Z. Stieg, D. Benítez, J. K. Gimzewski, J. R. Heath, J. F. Stoddart, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, 105, 6514.
- [43] A. Harada, J. Li, M. Kamachi, *Nature* **1992**, 356, 325.
- [44] A. Harada, M. Okada, J. Li, M. Kamachi, *Macromolecules* **1995**, 28, 8406.
- [45] N. Marangoci, A. Farcas, M. Pinteala, V. Harabagiu, B. C. Simionescu, T. Sukhanova, S. Bronnikov, A. Grigoryev, G. Gubanova, M. Perminova, A. Perichaud, *High Perform. Polym.* **2008**, 20, 251.
- [46] G. Wenz, B. Keller, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1992**, 31, 197.
- [47] A. Harada, Y. Takashima, H. Yamaguchi, *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 875.
- [48] P. N. Taylor, M. J. O'Connell, L. A. McNeill, M. J. Hall, R. T. Aplin, H. L. Anderson, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, 39, 3456.
- [49] J. Li, F. Zhao, J. Li, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, 90, 427.
- [50] I. Kräuter, W. Herrmann, G. Wenz, *J. Inclusion Phenom.* **1996**, 25, 93.
- [51] C. D. Hein, X.-M. Liu, F. Chen, D. M. Cullen, D. Wang, *Macromol. Biosci.* **2010**, 10, 1544.
- [52] N. Yui, T. Ooya, T. Kawashima, Y. Saito, I. Tamai, Y. Sai, A. Tsuji, *Bioconjugate Chem.* **2002**, 13, 582.
- [53] T. Ooya, N. Yui, *J. Controlled Release* **1999**, 58, 251.
- [54] M. Tamura, D. Gao, A. Ueno, *Chem. Eur. J.* **2001**, 7, 1390.
- [55] H. Hyun, N. Yui, *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, 32, 326.
- [56] A. Nelson, J. M. Belitsky, S. Vidal, C. S. Joiner, L. G. Baum, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 11914.
- [57] H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2001**, 40, 2004.
- [58] H. C. Kolb, K. B. Sharpless, *Drug Discov. Today* **2003**, 8, 1128.
- [59] R. Huisgen, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1963**, 2, 565.
- [60] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2002**, 41, 2596.
- [61] C. W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057.

- [62] L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H. H. Y. Sun, I. D. Williams, K. B. Sharpless, V. V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 15998.
- [63] B. T. Worrell, J. A. Malik, V. V. Fokin, *Science* **2013**, *340*, 457.
- [64] P.-A. Faugeras, B. Boëns, P.-H. Elchinger, F. Brouillette, D. Montplaisir, R. Zerrouki, R. Lucas, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, *2012*, 4087.
- [65] A. R. Khan, P. Forgo, K. J. Stine, V. T. D'Souza, *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1977.
- [66] K. A. Martin, A. W. Czarnik, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 6781.
- [67] S. Hanessian, A. Benalil, C. Laferriere, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4786.
- [68] K. Fujita, A. Matsunaga, T. Imoto, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 5740.
- [69] K. Fujita, H. Yamamura, T. Imoto, *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6737.
- [70] R. Breslow, C. Schmuck, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6601.
- [71] D. Armspach, L. Poorters, D. Matt, B. Benmerad, F. Balegroune, L. Toupet, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 2588.
- [72] T. Lecourt, A. Herault, A. J. Pearce, M. Sollogoub, P. Sinaÿ, *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 2960.
- [73] G. J. Stasiuk, N. J. Long, *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 2732.
- [74] H. Stetter, W. Frank, *Angew. Chem., Int. Ed.* **1976**, *15*, 686.
- [75] L. Lattuada, A. Barge, G. Cravotto, G. B. Giovenzana, L. Tei, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 3019.
- [76] C. Li, P. T. Winnard, T. Takagi, D. Artemov, Z. M. Bhujwalla, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15072.
- [77] R. F. H. Viguier, A. N. Hulme, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 11370.
- [78] A. Loudet, K. Burgess, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4891.
- [79] A. Treibs, F.-H. Kreuzer, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1968**, *718*, 208.
- [80] M. Shah, K. Thangaraj, M.-L. Soong, L. T. Wolford, J. H. Boyer, I. R. Politzer, T. G. Pavlopoulos, *Heteroat. Chem.* **1990**, *1*, 389.
- [81] G. Ulrich, R. Ziessel, A. Harriman, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 1184.
- [82] N. Saki, T. Dinc, E. U. Akkaya, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2721.
- [83] G. Ulrich, R. Ziessel, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2070.
- [84] J. Godoy, G. Vives, J. M. Tour, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1464.
- [85] C. H. G. Williams, *Trans. R. Soc. Edinburg* **1856**, 377.
- [86] L. Yuan, W. Lin, K. Zheng, L. He, W. Huang, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 622.
- [87] L. Strekowski, M. Lipowska, G. Patonay, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 4578.
- [88] X. Peng, F. Song, E. Lu, Y. Wang, W. Zhou, J. Fan, Y. Gao, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4170.
- [89] W. Pham, L. Cassell, A. Gillman, D. Koktysh, J. C. Gore, *Chem. Commun.* **2008**, 1895.
- [90] A. Samanta, M. Vendrell, R. Das, Y.-T. Chang, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 7406.
- [91] A. Mishra, R. K. Behera, P. K. Behera, B. K. Mishra, G. B. Behera, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1973.
- [92] D. Parker, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, *33*, 156.
- [93] M. H. V. Werts, R. H. Woudenberg, P. G. Emmerink, R. van Gassel, J. W. Hofstraat, J. W. Verhoeven, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2000**, *39*, 4542.
- [94] W. D. Horrocks, W. E. Collier, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 2856.
- [95] D. Parker, R. S. Dickens, H. Puschmann, C. Crossland, J. A. K. Howard, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1977.
- [96] G. Wenz, B.-H. Han, A. Müller, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 782.
- [97] Y.-L. Zhao, W. R. Dichtel, A. Trabolsi, S. Saha, I. Aprahamian, J. F. Stoddart, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11294.
- [98] S. Simova, H.-J. Schneider, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 1717.

- [99] M. V. Rekharsky, Y. Inoue, *Chem. Rev.* **1998**, 98, 1875.
- [100] L. Avram, Y. Cohen, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2639.
- [101] A. J. Baer, D. H. Macartney, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 1448.
- [102] A. C. Smith, D. H. Macartney, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9243.
- [103] T. Oshikiri, Y. Takashima, H. Yamaguchi, A. Harada, *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 7091.
- [104] M. R. Craig, T. D. W. Claridge, H. L. Anderson, M. G. Hutchings, *Chem. Commun.* **1999**, 1537.
- [105] J. S. Park, J. N. Wilson, K. I. Hardcastle, U. H. F. Bunz, M. Srinivasarao, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7714.
- [106] E. Mezzina, P. Franchi, M. Lucarini, *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* **2007**, 57, 179.
- [107] H. Onagi, C. J. Blake, C. J. Easton, S. F. Lincoln, *Chem. Eur. J.* **2003**, 9, 5978.
- [108] Q.-C. Wang, X. Ma, D.-H. Qu, H. Tian, *Chem. Eur. J.* **2006**, 12, 1088.
- [109] A. J. Baer, D. H. Macartney, *Inorg. Chem.* **2000**, 39, 1410.
- [110] Y. Suzaki, T. Taira, K. Osakada, *Dalton Trans.* **2006**, 5345.
- [111] L. Zalewski, M. Wykes, S. Brovelli, M. Bonini, T. Breiner, M. Kastler, F. Dötz, D. Beljonne, H. L. Anderson, F. Cacialli, P. Samorì, *Chem. Eur. J.* **2010**, 16, 3933.
- [112] H. Sun, J. Han, C. Gao, *Polymer* **2012**, 53, 2884.
- [113] A. Harada, M. Kamachi, *Macromolecules* **1990**, 23, 2821.
- [114] A. Harada, *Supramolecular Science* **1996**, 3, 19.
- [115] T. Zhao, H. W. Beckham, *Macromolecules* **2003**, 36, 9859.
- [116] J. Araki, C. Zhao, K. Ito, *Macromolecules* **2005**, 38, 7524.
- [117] S. Loethen, T. Ooya, H. S. Choi, N. Yui, D. H. Thompson, *Biomacromolecules* **2006**, 7, 2501.
- [118] G. Wenz, C. Gruber, B. Keller, C. Schilli, T. Albuzat, A. Müller, *Macromolecules* **2006**, 39, 8021.
- [119] W. Herrmann, B. Keller, G. Wenz, *Macromolecules* **1997**, 30, 4966.
- [120] P. Antoni, M. Malkoch, G. Vamvounis, D. Nystrom, A. Nystrom, M. Lindgren, A. Hult, *J. Mater. Chem.* **2008**, 18, 2545.
- [121] N. Raghunand, G. P. Guntle, V. Gokhale, G. S. Nichol, E. A. Mash, B. Jagadish, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 6747.
- [122] C. Szijjarto, E. Pershagen, K. E. Borbas, *Dalton Trans.* **2012**, 41, 7660.
- [123] T. Bura, F. Nastasi, F. Puntoriero, S. Campagna, R. Ziessel, *Chem. Eur. J.* **2013**, 19, 8900.
- [124] P. J. Jervis, M. Moulis, J.-P. Jukes, H. Ghadbane, L. R. Cox, V. Cerundolo, G. S. Besra, *Carbohydr. Res.* **2012**, 356, 152.
- [125] Y. Ye, W. P. Li, C. J. Anderson, J. Kao, G. V. Nikiforovich, S. Achilefu, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 7766.
- [126] Y. Wang, K. Ji, S. Lan, L. Zhang, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, 51, 1915.
- [127] F.-Y. Ji, L.-L. Zhu, X. Ma, Q.-C. Wang, H. Tian, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 597.
- [128] M. Chwalek, R. Auzely, S. Fort, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, 7, 1680.
- [129] V. Neto, R. Granet, P. Krausz, *Tetrahedron* **2010**, 66, 4633.
- [130] A. D'Aléo, J.-L. Pozzo, K. Heuzé, F. Vögtle, F. Fages, *Tetrahedron* **2007**, 63, 7482.

Polyrotaxanes de cyclodextrines pour l'imagerie bimodale

Dans le cadre de cette thèse, nous avons conçu un nouvel agent basé sur un polyrotaxane de cyclodextrines (CD) pour l'imagerie bimodale (*i. e.* pouvant être détecté par deux techniques complémentaires). Ainsi, des CD fonctionnalisées soit par un agent de contraste pour l'IRM soit par des sondes fluorescentes ont été enfilées sur un axe polymérique. Cette stratégie permet d'obtenir un système modulaire, flexible, biocompatible et biodégradable.

Dans un premier temps des CDs mono- ou di-fonctionnalisées ont été synthétisées sélectivement par couplage CuAAC entre un complexe de gadolinium (DOTA-Gd) ou des sondes fluorescentes (BODIPY, cyanine et complexe d'euporium) et une CD portant une ou deux fonctions azotures.

Dans un deuxième temps, des études cinétiques et thermodynamiques d'enfilage sur des monomères modèles ont montré la forte affinité des CDs fonctionnalisées pour des axes de type diaminododécane. En revanche, les axes de type PEG se sont révélés être moins bons invités. Des [3]rotaxanes modèles de CDGd et CDGd₂ montrant une amélioration significative des propriétés de relaxivité ont également été synthétisés.

Enfin l'élaboration de polyrotaxanes à base de polyammonium et de CDs fonctionnalisées a été réalisée avec succès. Leurs propriétés de relaxivité sont nettement meilleures que celles des complexes DOTA-Gd commerciaux. En outre les propriétés de fluorescence des sondes sont conservées au sein de l'architecture supramoléculaire. L'utilisation de ces polyrotaxanes dans des études biologique *in vitro* et *in vivo* peut maintenant être envisagée.

Mots-clés : Polyrotaxane, cyclodextrine, polyammonium, CuAAC, imagerie bimodale, rotaxane, IRM, relaxométrie, fluorescence, chimie supramoléculaire.

In this thesis, we have designed a bimodal imaging agent (which combines two complementary techniques) based on a cyclodextrins (CD) polyrotaxane. Thus, functionalized CD bearing MRI contrast agent or fluorescent probes were threaded onto a polymer axis. This supramolecular approach provides a modular, flexible, biocompatible and biodegradable system.

At first, several mono- or di-functionalized CDs have been synthesized selectively using CuAAC between a gadolinium complex (DOTA-Gd) or a fluorescent probe (BODIPY, cyanine, europium complex) and a CD with one or two azide functions.

Then, thermodynamic and kinetic threading studies with different monomer units have shown the strong affinity of functionalized CDs for axes such as diaminododecane. However, PEG-like axis resulted to be poor guests for the CD. Model [3]rotaxanes with CDGd and CDGd₂ were synthesized and have demonstrated a significant improvement of the relaxivity properties.

Finally, polyrotaxanes based on functionalized CDs and a polyammonium axis have been successfully obtained. Their relaxivity properties were clearly improved compared to commercially available DOTA-Gd complex. Moreover, the fluorescence properties of the probes were preserved in the supramolecular architecture. These polyrotaxanes can now be considered for *in vitro* and *in vivo* biological studies.

Keywords: Polyrotaxane, cyclodextrin, polyammonium, CuAAC, bimodal imaging, rotaxane, MRI, relaxometry, fluorescence, supramolecular chemistry